

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA REDE NORDESTE DE
BIOTECNOLOGIA - RENORBIO**

JOÃO MANOEL DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À
CACTÁCEAS EM ÁREA DE PROCESSO DE DESERTIFICAÇÃO PARA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM PLANTAS**

**Maceió-AL
2021**

JOÃO MANOEL DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS EM
ÁREA DE PROCESSO DE DESERTIFICAÇÃO PARA PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO EM PLANTAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção de grau de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade
Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Tania Marta Carvalho dos Santos

Universidade Federal de Alagoas
Divisão de Tratamento Técnico
Catalogação na Fonte
Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto - CRB-4 - 1767

S586b

Silva, João Manoel da.

Bioprospecção de fungos rizosféricos associados à
cactáceas em área de processo de desertificação para
promoção de crescimento em plantas / João Manoel da
Silva.-. Maceió: 2021.

113 f.: il.

Orientador: Gaus Silvestre de Andrade Lima.

Coorientadora: Tania Marta Carvalho dos Santos.

Tese (doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal
de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. RENORBIO. Maceió,
2021.

Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia - Agropecuária. 2. Microbiologia do solo.
3. Fitossanidade. 4. Biologia molecular. 5. Bioquímica do solo.
- I. Título.

CDU:606:631.1

JOÃO MANOEL DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS
EM ÁREA DE PROCESSO DE DESERTIFICAÇÃO PARA PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO EM PLANTAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia, ponto focal da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção de grau de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Tania Marta Carvalho dos Santos

Aprovada em: 10 de novembro de 2021

BANCA EXAMINADORA

Gaus Silvestre de Lima

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima
(CECA-UFAL - Orientador/Presidente)

Documento assinado digitalmente

gov.br

Tania Marta Carvalho dos Santos
Data: 23/11/2021 07:43:45-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a. Dr.^a. Tania Marta Carvalho dos Santos
(CECA-UFAL - Coorientadora)

Documento assinado digitalmente

gov.br

Antonio Euzebio Goulart Santana
Data: 25/11/2021 08:09:45-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. Antônio Euzebio Goulart Santana
(IQB-UFAL)

Tamara Cláudia de Araújo Gomes

Dr.^a. Tamara Cláudia de Araújo Gomes
(EMBRAPA-CPATC)

Flaviana Gonçalves da Silva

Prof.^a. Dr.^a. Flaviana Gonçalves da Silva
(IFAP)

Juan Pablo Molina Acevedo

Prof. Dr. Juan Pablo Molina Acevedo
(AGROSAVIA)

Maceió, AL
2021

Dedico esta tese à minha mãe, meu apoio fundamental, a qual sempre com amor incondicional, continuamente esteve ao meu lado apoiando minhas decisões, e compartilhando minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é o momento em que paramos para refletir sobre pessoas, momentos e situações dos quais nos motivam, impulsionam e nos auxiliam na caminhada. Durante o doutoramento, me deparei com momentos e situações, os quais me levaram a pessoas e trouxeram pessoas a mim.

Agradeço a todos os meus familiares, não os parentes estritamente consanguíneos, família a gente faz, desenvolve nas singularidades.

Aos meus amigos que são também família, uns antigos, mais antigos que a vida, outros recentes, que cada qual em sua particularidade me auxiliaram com gestos, palavras e olhares, sustentando minhas pernas quando a mente não queria mais seguir a trilha. Desses amigos, agradeço àqueles que fiz durante esse processo de curso. Vocês todos foram fundamentais e especiais.

Um agradecimento especial a um dos maiores amigos que tenho, Elivelton Costa, meu companheiro. Sua presença e palavras foram um grande auxílio nessa caminhada. E que nos próximos ciclos assim permaneça.

Aos meus orientadores, pelos aprendizado e guia. Aos demais professores que, com consciência de classe, didática e amor à docência e pesquisa, sempre me estimularam a caminhar na pesquisa científica. Esse amor e zelo pela Academia sempre foram e serão inspiradores, não só para mim, mas para todos aqueles que estão em seus percursos, iniciais ou finais.

Agradeço aos grupos de pesquisa dos laboratórios de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia Molecular, onde mesmo em meio aos olhares tortos e sinuosos por alguns, nunca me distanciaram do caminho.

Em todos os momentos da minha trajetória no curso sempre houveram dificuldades, superações e sorrisos. Gratidão a todos eles.

*“...bota o dedo pro alto
deixa os pés na raiz...”*
Mc Tha

SILVA, J. M. **BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS EM ÁREA DE PROCESSO DE DESERTIFICAÇÃO PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM PLANTAS**. 111f. 2021. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2021.

RESUMO GERAL

Ao longo do tempo as cactáceas adquiriram mecanismos para se estabelecer em ambientes escassos de água e nutrientes. Objetivou-se por meio desse estudo, o isolamento e identificação de fungos rizosféricos em associação com *Opuntia cochenillifera* de ocorrência espontânea em uma área sob processo exponencial de salinização e desertificação, bem como modelar seus atributos químicos e mineralógicos e realizar a bioprospecção dos fungos isolados quanto suas capacidades como promotores de crescimento em plantas de tomate. Para determinação da população microbiana, foi realizada coleta de solo na profundidade 0-20 cm da superfície na área correspondente à rizosfera. A diluição foi realizada até a fração 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} e inoculada em placas de Petri contendo meios de cultivo seletivos e realizada a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) e identificação morfológica e molecular dos isolados. Foi possível observar presença fungo rizosféricos em associação com *O. cochenillifera*, em área em processo de desertificação e salinização. Por meio da comparação (*e-value* > 99%) foram identificadas similaridades para *Aspergillus* spp., *Paecilomyces* spp., *Neurospora* sp. *Penicillium* spp. e *Coprinellus* spp.. Os isolados foram submetidas a ensaios de solubilização de fosfato, produção de ácido-3-indol acético (AIA), antagonismo contra fungos fitopatogênicos, desenvolvimento de plântulas de pepino e crescimento em meio de cultura com restrição hídrica. Por fim, realizou-se ensaio *in vivo* para promoção de crescimento em associação com pó de rocha silicática. Todos os resultados dos ensaios foram submetidos à análises estatísticas e teste de médias ou regressão, quando melhor apropriado. Essas espécies são conhecidas na literatura pela sua riqueza metabólica, sendo aplicáveis a processos biotecnológicos para promoção de crescimento em plantas cultivadas. Os isolados estudadas foram capazes de solubilizar fosfato, sendo F04 e F05 os que apresentaram os maiores índices de solubilização. Quanto a produção de AIA, os isolados F02 e F07 foram os mais promissores, com valores acima dos estipulados para conferir como altamente produtores, embora todos os isolados tenham produzido o hormônio, mesmo em menores níveis. Todos os isolados estudados foram capazes de inibir o crescimento de *Colletotrichum* sp. e *Fusarium* sp., com taxas acima de 80% de inibição do crescimento micelial, atuando por mecanismos de confronto direto, sobreposição ou produção de metabólitos. O desenvolvimento das plântulas de pepino foi evidenciado para os isolados F07, F08, F09 e F10, como também para a emissão de radícula. A restrição hídrica proporcionou o crescimento micelial das isolados, com decréscimo a partir da concentração de 10%. A promoção de crescimento foi verificada *in vivo* com e sem associação com pó de rocha silicática em plantas de tomate. Portanto, essas características conferem a esses isolados características promotores de crescimento em plantas.

PALAVRAS-CHAVE: fungos filamentosos, fungos promotores de crescimento vegetal, ácido-3-indol acético, solubilização de fosfato, *Internal Transcript Spacer*, antibiose, semiárido

SILVA, J. M. **BIOPROSPECTING OF RHIZOPHERIC FUNGI ASSOCIATED TO CACTI IN AN AREA UNDER DESERTIFICATION PROCESS TO PROMOTE PLANT GROWTH**. 111p. 2021. Thesis (Doctoral in Biotechnology), Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2021.

GERAL ABSTRACT

Over time, cacti have acquired mechanisms to establish themselves in scarce water and nutrient environments. The objective of this study was to isolate and identify rhizospheric fungi in association with cacti (*Opuntia cochenillifera*) that occur spontaneously in an area under exponential salinization and desertification, as well as to model their chemical and mineralogical attributes and to perform bioprospecting of the isolated fungi and their capacity as growth promoters in plants. To determine the microbial population, soil collection was performed at a depth 0-20 cm from the surface in the area corresponding to the rhizosphere. The dilution was carried out up to the fraction 10^{-3} , 10^{-4} and 10^{-5} and inoculated in Petri dishes containing selective culture media and the counting of colony forming units (CFU) and the morphological and molecular identification of the isolated strains were performed. It was possible to observe the presence of rhizospheric fungus in association with *O. cochenillifera*, in an area undergoing desertification and salinization. Through comparison (e-value > 99%), similarities for *Aspergillus* spp. (isolate F02) and *Coprinellus* spp. (isolate F05). the strains were subjected to phosphate solubilization assays, production of 3-indole acetic acid (IAA), antagonism against phytopathogenic fungi, cucumber seedling development and growth in water-restricted culture medium. Finally, an *in vivo* test was carried out to promote growth in association with silicate rock powder. All test results were subjected to statistical analysis and averaging or regression testing, when appropriate. These species are known in the literature for their metabolic richness, being applicable to biotechnological processes to promote growth in cultivated plants. The strains studied were able to solubilize phosphate, being F04 and F05 the ones with the highest solubilization rates. As for the production of IAA, the strains F02 and F07 were the most promising, with values above those stipulated to check as highly producers, although all strains have produced the hormone, even at lower levels. All strains studied were able to inhibit the growth of *Colletotrichum* sp. and *Fusarium* sp., with rates above 80% of mycelial growth inhibition, acting by mechanisms of direct confrontation, overlap or production of metabolites. The development of cucumber seedlings was evidenced for strains F07, F08, F09 and F10, as well as for radicle emission. The water restriction provided the mycelial growth of the strains, with a decrease from the concentration of 10%. Growth promotion was verified *in vivo* with and without association with silicate rock powder. Therefore, these characteristics give these strains growth-promoting characteristics in plants.

KEYWORDS: filamentous fungi, plant growth promoting fungi, 3-indole acetic acid, phosphate solubilization, Internal Transcript Spacer, antibiosis, semiarid

Lista de Figuras

Figura 1. Exemplificação gráfica das interações entre plantas e micro-organismos simbiotes no ambiente. Fonte: Adaptado de Silva et al. (2021).....	21
Figura 2. Esquema da biossíntese do ácido-3-indol acético tendo como precursor o aminoácido L-triptofano. Fonte (SILVA et al., 2021).....	25
Figura 3. Identificação da área de estudo. Adaptado de Nascimento et al. (2018).....	45
Figura 4. Identificação de pontos de desertificação no município de Ouro Branco – Alagoas. Adaptado de Nascimento et al. (2018).....	51
Figura 5. Morfologia de fungos isolados de rizosfera de cactáceas. A: F02, B: F04, C: F05, D: F07, E, F08, F: F09, G: F10, H: F11, I: F14, J: F15, H: F17; A1: F02, B1: F04, C1: F05, D1: F07, E1, F08, F1: F09, G1: F10, H1: F11, I1: F14, J1: F15, H1: F17. Setas vermelhas indicam esporos e/ou conídios.....	55
Figura 6. Árvore filogenética de máxima verossimilhança (1000 bootstraps) do sequenciamento do rDNA ITS (ITS 1 e ITS4) em relação a sequências depositadas no GenBank.....	56
Figura 7. Solubilização de fosfato por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos associados à cactáceas. Fonte: Autor (2020).....	73
Figura 8. pH do meio em função da solubilização de fosfato por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos associados à cactáceas. Fonte: Autor (2020).....	74
Figura 9. Reação colorimétrica indicadora da presença de produção de AIA. a) controle; b- e isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	76
Figura 10. Produção de ácido-3-indol acético por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a f17 = isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	76
Figura 11. Antagonismo de <i>Fusarium</i> sp. por isolados de fungos rizosféricos. a: controle. b - o: isolados F02 a F17, respectivamente. Fonte: Autor (2020).....	79
Figura 12: Antagonismo de <i>Colletotrichum</i> spp. por isolados de fungos rizosféricos. a: controle. b - o: isolados F02 a F17, respectivamente. Fonte: Autor (2020).....	80
Figura 13. Antagonismo (%) de <i>Fusarium</i> sp. por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	81
Figura 14: Antagonismo (%) de <i>Colletotrichum</i> spp. por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	82
Figura 15. Crescimento micelial de fungos rizosféricos associados à cactáceas em função de restrição hídrica. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	84
Figura 16. Altura de Plântulas de pepino em função do tratamento das sementes com filtrados fúngicos. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	85
Figura 17. Comprimento da radícula e pepino em função do tratamento das sementes com filtrados fúngicos. Fonte: Autor (2020).....	86
Figura 18. Crescimento de plântulas de pepino sob influência de extratos fúngicos. Controle: semente não tratada com o extrato. F08, Plântula bem desenvolvida; F07 plântula com desenvolvimento intermediário. F08 e F07: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	88
Figura 19. Mudanças de tomate submetidas à inoculação com fungos rizosféricos (A-C) e em combinação com pó de rocha silicática (D-F).....	99
Figura 20. Análise dos Componentes Principais (ACP) das variáveis resposta em plantas inoculadas com fungos rizosféricos e submetidas à pó de rocha.....	102

Lista de tabelas

Figura 1. Delimitação da região Semiárida Brasileira. Fonte: Adaptado de Sudene (2020).	20
Figura 2. Exemplificação gráfica das interações entre plantas e micro-organismos simbiontes no ambiente. Fonte: Adaptado de Silva et al. (2021).....	23
Figura 3. Esquema da biossíntese do ácido-3-indol acético tendo como precursor o aminoácido <i>L</i> -triptofano. Fonte (SILVA et al., 2021).....	27
Figura 4. Esquema da biossíntese do ácido-3-indol acético tendo como precursor o aminoácido <i>L</i> -triptofano. Fonte (SILVA et al., 2021).....	27
Figura 5. Identificação da área de estudo. Adaptado de Nascimento et al. (2018).....	49
Figura 6. Identificação de pontos de desertificação no município de Ouro Branco – Alagoas. Adaptado de Nascimento et al. (2018).....	56
Figura 7. Morfologia de fungos isolados de rizosfera de cactáceas. A: F02, B: F04, C: F05, D: F07, E, F08, F: F09, G: F10, H: F11, I: F14, J: F15, H: F17; A1: F02, B1: F04, C1: F05, D1: F07, E1, F08, F1: F09, G1: F10, H1: F11, I1: F14, J1: F15, H1: F17. Setas vermelhas indicam esporos e/ou conídios.....	60
Figura 8. Árvore filogenética de máxima verossimilhança (1000 bootstraps) do sequenciamento do rDNA ITS (ITS 1 e ITS4) em relação a sequências depositadas no GenBank.....	61
Figura 9. Solubilização de fosfato por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos associados à cactáceas. Fonte: Autor (2020).....	81
Figura 10. pH do meio de cultura em função do tempo de incubação.....	84
Figura 11. Reação colorimétrica indicadora da presença de produção de AIA. a) controle; b-e isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	85
Figura 12. Produção de ácido-3-indol acético por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a f17 = isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	86
Figura 13. Antagonismo de <i>Fusarium</i> spp. por isolados de fungos rizosféricos. a: controle. b - o: isolados F02 a F17, respectivamente. Fonte: Autor (2020).....	89
Figura 14: Antagonismo de <i>Colletotrichum</i> spp. por isolados de fungos rizosféricos. a: controle. b - o: isolados F02 a F17, respectivamente. Fonte: Autor (2020).....	90
Figura 15. Antagonismo (%) de <i>Fusarium</i> sp. por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	91
Figura 16: Antagonismo (%) de <i>Colletotrichum</i> spp. por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	92
Figura 17: Crescimento micelial de fungos rizosféricos associados à cactáceas em função de restrição hídrica. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	94
Figura 18. Altura de Plântulas de pepino em função do tratamento das sementes com filtrados fúngicos. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	95
Figura 19. Comprimento da radícula e pepino em função do tratamento das sementes com filtrados fúngicos. Fonte: Autor (2020).....	96
Figura 20. Crescimento de plântulas de pepino sob influência de extratos fúngicos. Controle: semente não tratada com o extrato. F08, Plântula bem desenvolvida; F07 plântula com desenvolvimento intermediário. F08 e F07: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).....	97
Figura 21. Mudanças de tomate submetidas à inoculação com fungos rizosféricos (A-C) e em combinação com pó de rocha silicática (D-F).....	109
Figura 22. Análise dos Componentes Principais (ACP) das variáveis resposta em plantas inoculadas com fungos rizosféricos e submetidas à pó de rocha.....	112

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2. CAPÍTULO I.....	17
REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Semiárido e Cactáceas: Fonte de Biodiversidade.....	17
2.2 Fungos Rizosféricos e funcionalidades para promoção de crescimento vegetal.....	20
2.2.1 Solubilização de Fosfato.....	22
2.2.2 Produção de reguladores de crescimento vegetal.....	24
2.2.3 Mecanismos biológicos de combate a fungos fitopatogênicos.....	27
2.3.4 Bioinsumos fúngicos e remineralizadores no desenvolvimento agrícola.....	30
REFERÊNCIAS.....	33
CAPÍTULO II.....	44
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS NO SEMIÁRIDO ALAGOANO.....	44
ISOLATION AND MORFOMOLECULAR IDENTIFICATION OF CACTII ASSOCIATED RIZOSPHERIC FUNGI FROM ALAGOANO SEMIARID.....	45
1 INTRODUÇÃO.....	46
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1. Isolamento e estimativa da população fúngica e atributos do solo.....	48
2.2. Identificação morfomolecular dos isolados fúngicos.....	50
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4 CONCLUSÕES.....	63
REFERÊNCIAS.....	63
CAPÍTULO III.....	69
SCREENING DE CARACTERES PROMOTORES E CRESCIMENTO VEGETAL POR FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS.....	69
SCREENING OF PLANT GROWTH PROMOTION CHARACTERS BY RHIZOSPHERIC FUNGI ASSOCIATED TO CACTI.....	70
1. INTRODUÇÃO.....	70
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.1 Solubilização de fosfato.....	72
2.2 Produção quantitativa de ácido-3-indol acético (AIA).....	73
2.3 Antagonismo contra <i>Fusarium</i> sp. e <i>Colletotrichum</i> sp.....	74
2.4 Crescimento sob restrição hídrica.....	75
2.5 Crescimento de plântulas de pepino sob influência de extratos extracelulares de fungos rizosféricos.....	75
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
3.1 Solubilização de fosfato.....	76
3.2 Produção quantitativa de ácido-3-indol acético.....	81
3.3 Antagonismo de <i>Fusarium</i> sp. e <i>Colletotrichum</i> sp.....	83
3.4 Crescimento micelial sob influência de estresse hídrico.....	88
3.5 Crescimento de plântulas.....	90
4. CONCLUSÕES.....	92
REFERÊNCIAS.....	93
CAPÍTULO IV.....	97
DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE TOMATEIRO (<i>Lycopersicon sculentum</i> L.) EM FUNÇÃO DE PÓ DE ROCHA SILICÁTICA E INOCULAÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS.....	97

1. INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura constantemente passa por mudanças e adaptações, as quais são mediadas pelos avanços e necessidades da sociedade, especialmente em prol do fornecimento de alimentos em quantidade e qualidade para a população. Atrelado a isso, os avanços biotecnológicos são uma das maiores ferramentas que o desenvolvimento agrícola possui para o desenvolvimento de suas práticas, especialmente devendo se pensar na sustentabilidade e métodos limpos de produção.

O semiárido é um clima característico de regiões que recebem um índice pluviométrico baixo e irregular em função também da evapotranspiração potencial (NASCIMENTO et al., 2018). Nesse clima encontra-se como bioma a Caatinga, reservatório de biodiversidade resiliente. Junto a essa biodiversidade, há as relações simbióticas e mutualísticas entre plantas e micro-organismos, as quais têm sido amplamente estudadas tendo em vista o conhecimento acerca da diversidade de espécies vegetais e microbianas. Estas últimas comumente aplicadas em processos biotecnológicos em função de suas funcionalidades, as quais são das mais diversas, desde aplicação á farmacologia e agropecuária.

Embora ainda pouco explorado do ponto de vista de prospecção biotecnológica para agropecuária, os micro-organismos do solo habitantes desse clima estão presentes em abundância e diversidade, apresentando potencialidades para incremento ao desenvolvimento vegetal na agricultura. Isso pois o solo é um reservatório amplo e rico no abrigo desses organismos, os quais podem ser de vida livre ou simbióticos para com as plantas que na região habitam. A rizosfera é compreendida como a região próxima e circundante a região das raízes dos vegetais, assim, é importante a bioprospecção de micro-organismos associados a vegetação devido a maior capacidade simbiótica, especialmente em ambientes extremos, como é o semiárido.

Nesse sentido, os fungos filamentosos são micro-organismos multicelulares, organizados filogeneticamente no domínio *Eukarya*, estando proximamente ligados aos grupos dos animais e plantas, mas sendo um grupo distinto de ambos e completamente diverso no que tange morfologia e variabilidade genética (TORTORA, FUNKE, CASE, 2016). Nas relações simbióticas, apresentam afinidade com as raízes das plantas, atuando como extensões destas, facilitando assimilação e absorção de nutrientes conferindo maior resistência aos eventos adversos que podem ocorrer no ambiente, como escassez de água,

por exemplo. Logo, a bioprospecção de fungos filamentosos associados à rizosfera de cactáceas naturalmente habitantes do clima semiárido é importante para o desenvolvimento de estratégias de melhorias na produtividade agrícola por meio dos mecanismos de promoção de crescimento vegetal que esses organismos são capazes de prover.

Dentre os mecanismos de promoção de crescimento em plantas, a solubilização de fosfato é uma das estratégias mais desejáveis, uma vez que esse nutriente faz parte dos maiores limitantes na produção vegetal, especialmente pelo fato de estar presente nos processos metabólicos das plantas, atuando de formas diretas e indiretas no seu desenvolvimento. Ademais, o fato de o P ser um elemento limitante na agricultura tem gerado uma grande discussão quanto a utilização de micro-organismos solubilizadores deste elemento.

Fitormônios ou hormônios vegetais, por sua vez, são compreendidas como substâncias químicas que em baixas concentrações promovem o crescimento das plantas, influenciando no seu crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular de tecidos. São moléculas sinalizadoras que regulam muitos processos de desenvolvimento das plantas são compostos orgânicos, os quais são produzidos naturalmente em alguma parte da planta e em algum momento da sua fenologia transportados para outra, o que finda em respostas fisiológicas específicas, e também há os que agem no próprio local onde são produzidos (TAIZ; ZEIGER, 2013). Por causa da capacidade de estimular ou inibir o crescimento de plantas, estes também são chamados de reguladores de crescimento de plantas. Cinco principais grupos de fitormônios são reconhecidos: auxinas, giberelinas, etileno, citocininas e ácido abscísico (TAIZ; ZEIGER, 2013). Esses fitohormônios ou fitorreguladores são fundamentais também nos processos de colonização do sistema radicular para com os processos simbióticos.

Outro fator importante é a supressão de doenças de plantas pelo uso micro-organismos benéficos da rizosfera que pode ocorrer por vários mecanismos de ação, como: antagonismo relacionado à produção de antibióticos antifúngicos, competição por espaço e nutrientes com fitopatógenos e outros micro-organismos prejudiciais à rizosfera e indução de resistência nas plantas (SILVA et al., 2017). Considerando o biocontrole, são vários os mecanismos de ação utilizados por esses fungos, dentre os quais, destacam-se a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a competição por nutrientes do meio. Esses caracteres conferem a esses organismos lugar de

destaque nas pesquisas relacionadas ao biocontrole de doenças de plantas causadas por fungos.

Muitos dos fungos filamentosos encontrados em simbiose com as plantas no rizoplano são capazes de crescer em condições adversas, como altos níveis de salinidade ou metais pesados, como também na ausência total ou parcial de água. Nesse aspecto, levanta-se a hipótese de que a simbiose entre fungos filamentosos e plantas fomentam a capacidade de resistência das plantas, podendo ser por meio da disponibilização de nutrientes para as plantas na duração desses estresses ambientais, enquanto as plantas disponibilizam também para os micro-organismos exudatos liberados pelo sistema radicular, havendo uma relação de troca mútua entre ambos os grupos.

Em associação a essas prospecções funcionais de fungos com capacidades promotoras de crescimento vegetal, as técnicas moleculares em associação com os métodos tradicionais de identificação desses micro-organismos por meio das características morfológica são fundamentais para sustentação da pesquisa. Dentre as regiões genéticas utilizadas na identificação de fungos a ITS (*Internal Transcript Space*) é uma das mais difundidas, especialmente por se tratar de uma região conservada (MAN et al., 2010). Técnicas moleculares utilizando a região do DNA ribossomal (ITS-rDNA), associadas a ferramentas de bioinformática têm sido úteis na identificação e classificação de espécies de fungos, permitindo assim reconstrução das relações filogenéticas do grupo, auxiliando na determinação de linhagens evolutivas independentes e na inferência de sua respectiva história evolutiva.

Assim, essa pesquisa propõe a bioprospecção de fungos rizosféricos associados à cactáceas do semiárido alagoano tendo em vista suas habilidades como promotores de crescimento vegetal, desse modo, o Capítulo I traz uma revisão bibliográfica sistemática acerca da temática, abordando os pontos essenciais para o desenvolvimento da pesquisa, servindo como aporte teórico e metodológico.

O Capítulo II faz uma abordagem acerca do isolamento e identificação dos fungos rizosféricos associados às cactáceas do semiárido. Portanto, apresenta as evidências da diversidade microbiana quanto à população de fungos rizosféricos. Ademais, vem também apresentar a necessidade de estudos voltados para áreas e biomas que estão em processo de desertificação, apoiando-se nos resultados sobre estrutura microbiana, pois, maioria dos trabalhos previamente publicados encontram-se em *locus* de ambientes de áreas de preservação ambiental, havendo assim um fator que facilita a presença biodiversa.

No Capítulo III estão apresentados resultados obtidos por meio do *screening* das características dos fungos rizosféricos quanto sua capacidade para promoção de crescimento vegetal, como solubilização de fosfato, produção de ácido-3-indol acético, antibiose frente a fungos fitopatogênicos, desenvolvimento de plântulas de pepino e crescimento micelial sob influência da restrição hídrica, mostrando que esses isolados aqui estudadas apresentam diversidade quanto a essas características, podendo ser aplicadas em processos biotecnológicos para a formulação de inoculantes.

No capítulo IV realizou-se um estudo *in vivo* para determinar a promoção de crescimento dos isolados fúngicos em mudas de tomateiro com associação ao pó de rocha silicático, o que intui ao desenvolvimento de bioprocessos para desenvolvimento agrícola. Portanto, os capítulos aqui abordados permeiam em torno da bioprospecção de fungos rizosféricos associados à cactáceas tendo em vista suas características funcionais para promoção de crescimento vegetal.

2. CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Semiárido e Cactáceas: Fonte de Biodiversidade

A Caatinga é o único e exclusivo bioma genuinamente brasileiro, portanto se tem a necessidade da sua conservação, tendo em vista a manutenção do seu alto grau de endemismo e riqueza de espécies pois, ao longo do processo de uso e ocupação do espaço semiárido, este bioma vem passando por intensos processos de degradação devido às práticas agropecuárias (NASCIMENTO et al., 2018) e o extrativismo vegetal, realizados de forma intensiva, inadequada, e, em muitos casos, de forma predatória; resultando na perda da cobertura vegetal (NASCIMENTO; LIMA; LIMA, 2014).

Esse bioma possui uma vegetação típica do semiárido nordestino, adaptada a solos secos, clima de sol forte o ano todo, com temperaturas elevadas, chuvas escassas e irregulares, com secas periódicas (PRUDÊNCIO; CÂNDIDO, 2009). Essas características fazem com que muitos compreendam erroneamente o bioma como pobre em biodiversidade, o que não é o caso, pois, a caatinga e o semiárido apresentam uma vasta diversidade vegetal e animal. Em adição a esses há a influência dos micro-organismos que vivem em simbiose, especialmente com as plantas, por meio da rizosfera e também como endófitos.

O clima dessa região faz parte de um dos sistemas mais complexos do mundo, devido não apenas à extensão territorial que compreende, mas também ao sistema de ventos oriundos das regiões Nordeste e Sudeste, os quais criam uma instabilidade nos padrões pluviométricos que culminam por se concentrar em alguns meses do ano, ocasionando uma escassez de chuvas. Logo, existe uma grande variação na precipitação anual para o semiárido. Essas condições particulares são as responsáveis pela grande diversidade de tipos vegetacionais que caracterizam o semiárido (GIULIETTI et al., 2006).

Dentre as espécies vegetais características do Semiárido, as cactáceas estão dentre as mais abundantes. As espécies desse grupo vegetal estão dentre as mais conspícuas e típicas dos ambientes áridos e semiáridos do Novo Mundo, sendo encontradas desde o sudeste da Patagônia (Argentina) até o sul do Canadá, em habitats variados que vão desde regiões áridas até florestas úmidas (MEIADO et al., 2012). Entretanto, são mais

frequentemente encontradas em regiões de clima quente e seco, exceto na região úmida equatorial (TAYLOR; ZAPPI, 2004).

O semiárido brasileiro possui uma área equivalente a 1,03 milhão de quilômetros quadrados, representando 12% do território nacional. Na região Nordeste, 1.262 municípios localizados nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe possuem sua área caracterizada como semiárida (ASA, 2020). Essas regiões são caracterizadas por ter precipitação pluviométrica média anual igual ou inferior a 800 mm, índice de Aridez de Thornthwaite igual ou inferior a 0,50 e/ou percentual diário de déficit hídrico igual ou superior a 60%, considerando todos os dias do ano (SUDENE, 2020) (Figura 1).



Figura 1. Delimitação da região Semiárida Brasileira. Fonte: Adaptado de Sudene (2020).

No estado de Alagoas, em função do grau de xerofitismo da vegetação e variabilidade edafoclimáticas, as formações vegetais que dominam o extremo oeste do Estado são divididas em Caatinga Hiperxerófila, Caatinga de Várzea e Caatinga

Hipoxerófila, sendo esta última, predominante em Olho D'Água do Casado e Delmiro Gouveia (EMBRAPA, 2012).

A família Cactaceae contém representantes que se encontram distribuídos em regiões áridas e quentes, sendo mais notáveis no sudoeste dos Estados Unidos e México, leste brasileiro e nos Andes Sul-Americanos (BARTHLOTT; HUNT, 1993). Entre as cactáceas, é possível observar características evolutivas incomuns, como as modificações nas estruturas vegetativas - perda ou redução das folhas; o córtex e a medula são transformados em um tecido próprio para o armazenamento de água; os ramos laterais são transformados em agrupamentos de espinhos centrais e radiais denominados aréolas. Podem ter o tronco cilíndrico ou colunar, ramificado ou sem ramificações, segmentado ou não segmentado e alguns ainda podem ser globosos com a forma de uma esfera (ANDERSON, 2001), o que denota numa vasta diversidade morfológica.

Infelizmente, no Brasil a prática do desmatamento é algo corriqueiro e comum em todos os biomas no país inteiro. Além dessa problemática, os biomas têm sofrido por vários processos degradativos ao longo dos anos, muitos desses ocasionados pelas más práticas agropecuárias, e muitas dessas realizadas de modo indiscriminado e ausente de assistência especializada. Esses processos antropogênicos proporcionam vários danos ao meio ambiente, especialmente no que tange a redução das populações biológicas, afetando também os micro-organismos, importantes agentes da ciclagem e manutenção de nutrientes.

Assim como a vegetação local, os micro-organismos presentes nesse sistema apresentam adaptações a estresses abióticos, tais como salinidade, temperaturas elevadas, incidência de radiação solar alta e estresse hídrico (VURUKONDA et al., 2016). Esses organismos possuem a habilidade de tolerar essas condições adversas e contrastantes (BARROS et al., 2019) inerentes ao ambiente, podendo desempenhar importante papel no fluxo de energia, na ciclagem de matéria orgânica e nos ciclos biogeoquímicos (BREZABORUTA et al., 2016).

Dadas essas observações, esse ambiente vem sendo cada vez mais explorado por pesquisadores como uma fonte para estudos que abordam a riqueza e diversidade microbiana (LIMA et al., 2014). Lima et al. (2014) destacam a necessidade de desenvolvimento de pesquisas direcionadas aos estudos das populações microbianas na caatinga, uma vez que a comparação de resultados se torna uma dificuldade dada a maior concentração de pesquisa em áreas de reserva ou de biomas diferentes. Também se destaca

o potencial biotecnológico desses micro-organismos (SANTOS et al., 2011) que vivem associados às intempéries locais.

2.2 Fungos Rizosféricos e funcionalidades para promoção de crescimento vegetal

Os micro-organismos do solo são responsáveis pela degradação de diferentes constituintes da matéria orgânica do solo, transformados em uma variedade de biomoléculas e metabólitos secundários, liberados via ação de várias enzimas (TORTELLA et al., 2008). Esses compostos e biomoléculas são apreciados no tocante da assimilação pelas plantas, os quais, ao passarem pelo processo de ciclagem, atuam como biofertilizantes ou podem contribuir de modo indireto na atuação na estabilidade da biota, metabolismo, sanidade e diversidade do solo.

Naturalmente, as plantas são colonizadas por inúmeros micro-organismos, estabelecendo várias formas de associações simbióticas. Essas associações compreendem a diversos mecanismos que proporcionam nomear esses micro-organismos como Promotores de Crescimento Vegetal. Assim, dentre as características mais comumente conhecidas na agricultura pode ser citada a solubilização de fosfato (SILVA et al., 2015; SILVA et al., 2019), produção de hormônios ou reguladores de crescimento vegetal (OLIVEIRA et al., 2012) e controle de fitopatógenos (SILVA et al., 2017), podendo este agir por meio de vários mecanismos (diretos e indiretos).

A associação entre espécies de arroz silvestre com bactérias diazotróficas (ZHANG et al., 2008) e fungos endofíticos "*dark septate*" (DSEF) (YUAN et al., 2010) são exemplos das interações que podem ocorrer entre plantas cultivadas e micro-organismos promotores de crescimento vegetal. Alguns autores têm sugerido que os DSEF possuem a habilidade de estabelecer associações mutualistas com as plantas hospedeiras, pois atuam como promotores do crescimento vegetal e, principalmente, facilitam a absorção de fósforo e nitrogênio (CHEN et al., 2010).

Também tem sido observado que esses fungos podem coexistir com fungos micorrízicos e produzir metabólitos capazes de aumentar a germinação, o crescimento e a ramificação de hifas desses fungos, beneficiando a planta hospedeira de forma indireta (SCERVINO et al., 2009) (Figura 2). Essa coexistência é um fator importante, pois, não havendo competição entre os micro-organismos benéficos no solo, maiores são as chances de promover um melhor equilíbrio na microbiota do solo, favorecendo o desenvolvimento

vegetal. Diferentemente de fungos micorrízicos arbusculares, os DSEF não são biotróficos obrigatórios, o que facilita seu cultivo em meio de cultura e o desenvolvimento de inoculantes que visem à promoção do crescimento vegetal, sendo esta uma característica favorável para um fungo promotor de crescimento vegetal.

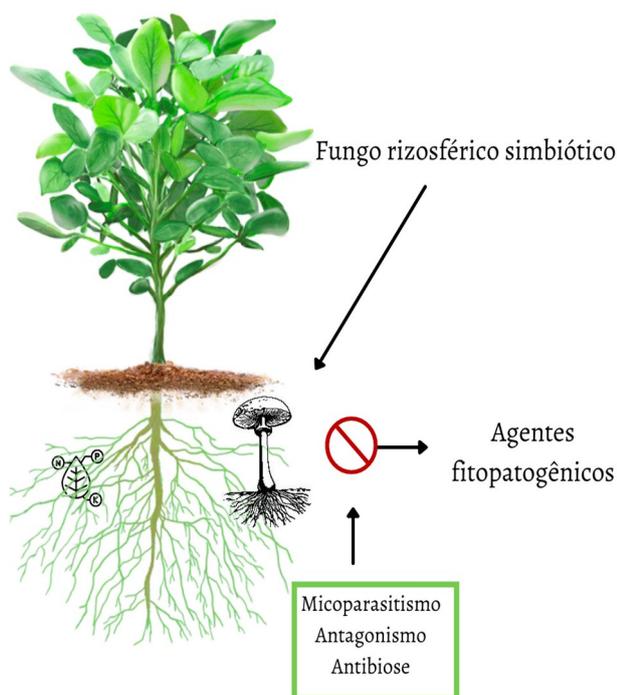


Figura 2: Representação da interação entre fungos rizosféricos e as raízes das plantas. Fonte: Adaptado de Silva et al. (2021).

Algumas linhagens de *Trichoderma* sp. têm sido amplamente estudadas pois aumentam a superfície total do sistema radicular, possibilitando um maior acesso aos elementos minerais nele presentes. Outras são capazes de solubilizar e disponibilizar para a planta o fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco. Também podem melhorar os mecanismos ativos de absorção de cobre, fósforo, ferro, manganês, sódio, cobalto, cádmio, cromo, níquel, chumbo, vanádio, magnésio, boro, zinco e alumínio; bem como aumentar a eficiência da planta para utilizar alguns nutrientes importantes, como o nitrogênio.

A inoculação de micro-organismos, aliados ou não a outros micro-organismos benéficos do solo, pode incrementar o desenvolvimento vegetal (SILVA FILHO; VIDOR, 2001; NARLOCH et al., 2002), o qual pode ser induzido de forma direta, pela produção de hormônios de crescimento, ou indireta, pela modificação da microbiota da rizosfera. Este

último é considerado um dos principais mecanismos de ação, devido à supressão de micro-organismos deletérios (MELO; AZEVEDO, 1998).

2.2.1 Solubilização de Fosfato

Apesar de abundante nos solos, tanto na forma orgânica quanto inorgânica, o fósforo (P) é o segundo nutriente limitante ao crescimento de plantas. A baixa disponibilidade desse nutriente, especialmente em condições de solos ácidos das regiões tropicais e subtropicais, é tido como um dos fatores limitantes para a produção agrícola (VINHA et al., 2021). Esses caracteres estimulam as altas aplicações de adubos fosfatados, porém as plantas não possuem a capacidade de assimilar essas concentrações aplicadas. Assim, adsorção do P indisponibiliza esse macronutriente às plantas e o sujeitam a perdas por erosão, uma vez que ele é arrastado juntamente com a argila e a matéria orgânica.

Esse elemento é um dos principais macronutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas devido à sua atuação em processos metabólicos (ROCHA et al., 2007). De modo geral, os solos brasileiros apresentam naturalmente baixo teor de fósforo total e muito baixo teor de fósforo disponível para as plantas. Do fósforo adicionado ao solo através de fertilizantes químicos, até 25% é aproveitado pelas plantas. Essas adubações são realizadas principalmente com fosfatos solúveis em água, atingindo dosagens de fósforo muito superiores às necessidades das culturas, pois a maior parte do adicionado torna-se indisponível às plantas (BRAGA, 2006). Essa indisponibilidade caracteriza prejuízo financeiro aos produtores, fazendo assim necessário a utilização de estratégias que possam mitigar esse cenário.

Micro-organismos solubilizadores de fosfato são aqueles que possuem a habilidade de secretar ácidos orgânicos, e/ou fosfatases que facilitam a conversão de formas insolúveis de fósforo (P) para formas disponíveis para as plantas (MOREIRA; ARAÚJO, 2013). No ciclo do P no solo, os micro-organismos são fatores importantes, onde o P orgânico pode ser liberado por meio da mineralização e o P inorgânico por meio da hidrólise de monoésteres por fosfomonoesterase alcalina e ácida. As plantas liberam apenas a fosfomonoesterase ácida, enquanto os micro-organismos podem produzir a ácida e alcalina. Com isso, os micro-organismos demonstram maior envolvimento no ciclo do P contribuindo para maior nutrição das plantas (CUI et al., 2015).

Esses micro-organismos desempenham importante papel no suprimento de P às plantas e sua ação solubilizadora tem sido associada, principalmente, à produção de ácidos orgânicos (ALVES; SILVA FILHO, 2009; BARROSO; NAHAS, 2008). No solo, os micro-organismos solubilizadores de P contribuem para aumentar a concentração desse elemento na solução do solo, fazendo com que este possa ser absorvido diretamente pelas raízes ou pelas hifas de fungos em simbiose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O fósforo (P) é adsorvido aos colóides do solo ou transformado em compostos de ferro e alumínio pouco solúveis para as plantas. Por isto é que as formulações de fertilizantes são representadas por altos teores de P. Com isto, maiores quantidades de P são adicionadas ao solo para que a planta aproveite 25%, o que se traduz numa baixa eficiência dos fertilizantes fosfatados. Neste sentido, os micro-organismos do solo têm um papel transcendente na mineralização e solubilização do fósforo. As formas orgânicas de P são mineralizadas pelos micro-organismos produtores das enzimas fosfatases (BRAGA, 2006).

O P orgânico é transformado em P solúvel pela ação das fosfatases, enzimas que catalisam a hidrólise de ésteres de fosfatos, liberando fosfato solúvel. As fosfatases são secretadas pelas raízes das plantas e pelos micro-organismos do solo (NAHAS et al., 1994). Esta enzima, quando no meio vegetal, pode ser constitutiva ou induzida por fatores externos como deficiência de fósforo inorgânico ou dificuldade de absorver fósforo em condições de falta de água.

Tarafdard et al. (1981) verificaram que a atividade da fosfatase ácida apresenta uma correlação significativa com o fósforo inorgânico. A concentração de fósforo inorgânico no tecido da planta constitui um parâmetro de eficiência ao uso de fósforo. Quanto menor o teor de fósforo inorgânico no tecido, maior a atividade da fosfatase ácida no mecanismo de uso de fósforos pelas plantas (OLIVEIRA et al., 1999).

A inoculação de micro-organismos solubilizadores de fosfatos no solo tem sido sugerida como alternativa para substituir ou diminuir o uso de fertilizantes fosfatados solúveis, mediante melhor aproveitamento dos fosfatos naturais (VESSEY, 2003), existentes ou adicionados ao solo e dos formados pela aplicação de fontes solúveis, para incrementar a concentração de fósforo solúvel na rizosfera e promover a nutrição das plantas com fósforo (PEIX et al., 2001; GYANESHWAR et al., 2002).

2.2.2 Produção de reguladores de crescimento vegetal

Fitormônios ou hormônios vegetais são compreendidas como substâncias químicas que em baixas concentrações promovem o crescimento das plantas, influenciando no seu crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular de tecidos (SPAEPEN et al., 2009). São moléculas/compostos orgânicos sinalizadoras que regulam muitos processos de desenvolvimento das plantas (FITZE et al., 2005) os quais são produzidos naturalmente em alguma parte da planta e em algum momento da sua fenologia transportados para outra, o que finda em respostas fisiológicas específicas, e também há os que agem no próprio local onde são produzidos. Por causa da capacidade de estimular ou inibir o crescimento de plantas, estes também são chamados de reguladores de crescimento de plantas. Cinco principais grupos de fitormônios são reconhecidos: auxinas, giberelinas, etileno, citocininas e ácido abscísico (SAHARAN; NEHRA, 2011). Esses fitohormônios ou fitorreguladores são fundamentais também nos processos de colonização do sistema radicular para com os processos simbióticos.

As auxinas são compostos que estimulam o crescimento, sendo o ácido-3-indolacético (AIA) a principal auxina encontrada nas plantas, o qual é produzido no meristema apical do caule, folhas jovens, flores, frutos em desenvolvimento e sementes, sendo também encontrados em raízes. O seu transporte ocorre unidirecionalmente, por meio das células parenquimáticas do floema e parenquimática que circulam os tecidos vasculares (RAVEN et al., 2001) (Figura 3). Esses fitohormônios são responsáveis pelo alongamento das plantas e diferenciação celular, sendo os mais prospectados em função dos micro-organismos promotores de crescimento vegetal.

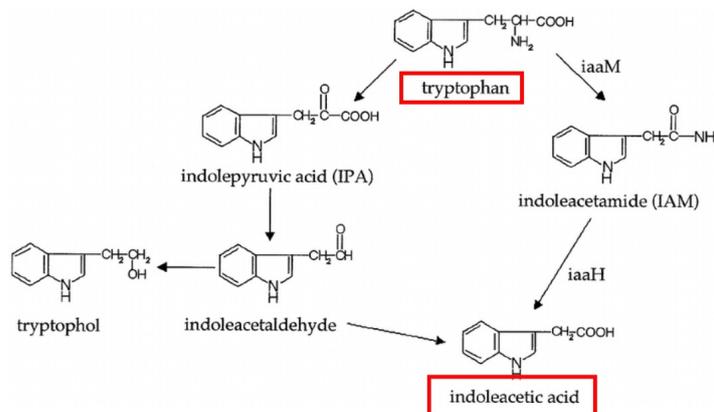


Figura 3. Esquema da biossíntese do ácido-3-indol acético tendo como precursor o aminoácido *L*-triptofano. Fonte (SILVA et al., 2021).

Fungos promotores do crescimento vegetal beneficiam as plantas por meio de mecanismos diretos (produção de fitormônios, redução dos níveis de etileno na planta, solubilização de fosfato) e indiretos, os quais incluem mecanismos de biocontrole, produção de antibióticos, indução de resistência sistêmica, dentre outros, mostrando, diversificados mecanismos os quais podem ser aplicados na agricultura (OLIVEIRA et al., 2012; AGUADO-SANTACRUZ et al., 2012; MOREIRA; ARAÚJO, 2013).

Alguns desses micro-organismos são capazes de estimular o crescimento das plantas por meio da redução dos níveis de etileno nas mesmas, por meio da ação da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, diminuindo a produção de etileno nas raízes das plantas hospedeiras, o que resulta no alongamento desse órgão vegetal. A promoção do crescimento radicular é um dos efeitos benéficos dos micro-organismos promotores do crescimento vegetal, pois o estabelecimento rápido das raízes laterais e adventícias é uma característica vantajosa para as plantas, aumentando a habilidade de se fixar ao solo e obter água e nutrientes do ambiente (MOREIRA; ARAÚJO, 2013; SILVA et al., 2015). Ademais, os fungos possuem a capacidade de atuar como “extensões” das raízes das plantas, o que fomenta as habilidades anteriormente citadas.

Kaldorf e Ludwig-Müller (2000) observaram que plantas colonizadas por Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) apresentaram incremento na biossíntese e na concentração de ácido indol-3-butírico (IBA) livre nas suas raízes, ao mesmo tempo em que essas apresentam significativo aumento na sua ramificação lateral. Segundo os mesmos autores, o incremento dos percentuais de AIB está relacionado com o aumento da interação planta-FMAs. De acordo com Ludwig-Müller (2000), apesar de a síntese de fitohormônios em plantas colonizadas por FMAs ainda ser pouco estudada, há evidências de que a troca hormonal entre os FMAs e as plantas hospedeiras existe.

O aminoácido *L*-triptofano, funciona como precursor fisiológico na biossíntese de auxinas em plantas e em micro-organismos (KHALID et al., 2004). Na biossíntese de AIA Trp-independente, o glicerol-3-indol fosfato ou indol é provavelmente o precursor, porém pouco é conhecido sobre a via bioquímica para AIA (ZHANG et al., 2008). Na biossíntese de AIA Trp-dependente, várias vias têm sido propostas: (i) via do Indol-3-Acetamida (IAM); (ii) via do Ácido Indol-3-30-Pirúvico (IPA); (iii) via da Triptamina (TAM) e (iv) via do Indol 3-Acetaldoxima (IAOX) (NORMANLY, 2010; ZHAO, 2010) (Figura 4).

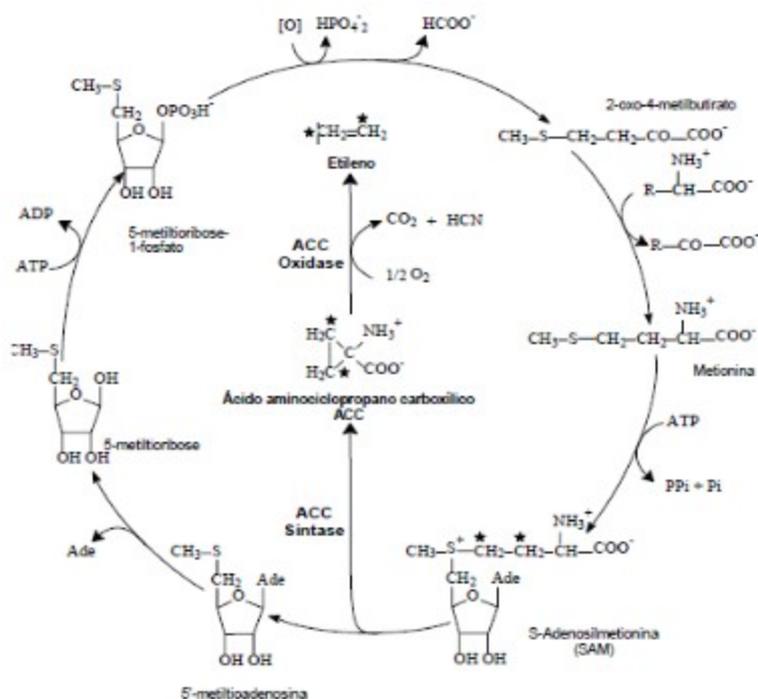


Figura 4 Vias de biossíntese de AIA trip-dependentes. Fonte: Adaptado de Pech et al. (2003).

2.2.3 Mecanismos biológicos de combate a fungos fitopatogênicos

A supressão de doenças por micro-organismos benéficos da rizosfera pode ocorrer por vários mecanismos de ação, como: antagonismo relacionado à produção de antibióticos antifúngicos, competição por espaço e nutrientes com fitopatógenos e outros micro-organismos prejudiciais à rizosfera e indução de resistência nas plantas (MOREIRA; ARAÚJO, 2013).

Considerando o biocontrole, são vários os mecanismos de ação utilizados por esses fungos, dentre os quais, destacam-se a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a competição por nutrientes (VERMA et al. 2007). Esses caracteres conferem a esses organismos lugar de destaque nas pesquisas relacionadas ao biocontrole de doenças de plantas causadas por fungos.

O controle biológico é caracterizado como uma forma de emprego de micro-organismos com o intuito de limitar a ação de patógenos no ambiente e/ou aumentar a resistência do hospedeiro quanto ao ataque desses agentes nocivos (MORANDI; BETTIOL, 2009). Desse modo, é imperativo afirmar a necessidade de prospecção de micro-organismos não somente com base em suas funções biológicas, mas também observar as relações junto ao hospedeiro e ambiente.

Nessa perspectiva de modelo de agricultura extensiva mundialmente difundida e buscando a atender a necessidade de produção de *commodities* e alimentos para a população, o controle biológico acabou por ser uma área de estudos envolvendo diferentes áreas como a ecologia, biossistemática, comportamento, fisiologia e genética, com o objetivo de subsidiar conhecimentos e atuar não somente no microclima no qual a população está inserida, mas também no equilíbrio de toda a comunidade biológica do solo (COOK; BAKER, 1983).

Para que se aplique o biocontrole ou controle biológico em doenças de plantas, busca-se por micro-organismos de vida livre, ou colonizadores de superfícies vegetais e hiperparasitas, fungos que parasitam outros fungos (SILVA et al., 2017) ou, ainda, colonizadores de tecidos internos das plantas, os quais são denominados endofíticos ou edófitos.

Tais agentes de biocontrole podem atuar por diversos mecanismos de ação diretos como competição, parasitismo e antibiose direta, ou mecanismos indiretos como promoção de crescimento vegetal e indução de resistência, sendo mecanismos que sempre atuam em

paralelo. Existem na literatura especializada, relatos de uma diversidade de micro-organismos, principalmente fungos e bactérias, utilizados no controle de fungos fitopatogênicos (PAL; GARDENER, 2006; MORANDI; BETTIOL, 2009; SILVA et al., 2019).

A introdução da técnica de controle biológico no manejo de doenças em plantas cultivadas vem sendo estudada e aplicada há anos, com o intuito de reduzir o uso descontrolado de produtos químicos, reduzindo seus efeitos deletérios e danosos ao ambiente, homem e animais, bem como a redução de custos na produção das culturas de interesse e beneficiando a saúde do homem e dos animais (GRICOLETI JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2000). Assim, é possível afirmar que a aplicação de técnicas de controle biológico, especialmente junto ao manejo integrado de pragas (MIP) é uma alternativa como tecnologia limpa para a produção agrícola e produção de alimentos.

O sucesso no uso de organismos antagonistas no controle de doenças de plantas está relacionado ao conhecimento da ecologia e fisiologia de patógeno e antagonista. Logo, é necessário saber qual o nível de resistência suportado pelo antagonista, como é seu comportamento e crescimento em diferentes substratos, qual sua resistência à produtos químicos e como é a relação entre patógeno, hospedeiro e o ambiente em que ambos estão inseridos (solo, planta, atmosfera, dentre outros) (MORANDI; BETTIOL; PAULA JÚNIOR, 2014).

Em contramão ao controle químico, o controle biológico apresenta efeitos a longo prazo e não imediato, como se observa quando se aplicam fungicidas. Entretanto, este último, mesmo em condições corretas de aplicação, tende a prejudicar o agroecossistema, especialmente quando se aplicado junto ao solo ou no caule de espécies arbóreas, podendo ser levado ao solo e cursos d'água por lixiviação ou deriva.

Por muitas ocasiões, a falta de assistência e orientação técnica especializada em como utilizar produtos químicos nas lavouras, como também as formas corretas de se aplicar os produtos oriundos de agentes biológicos também dificulta a aplicabilidade e exequibilidade dessas técnicas de controle de doenças de plantas. Porém, esse método apresenta inúmeras vantagens, principalmente no quesito meio ambiente, não causando impactos danosos. Além disso, é um controle de baixo custo e ainda reduz a possibilidade de perda de organismos benéficos que estejam presentes no ambiente (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Portanto, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas quanto a prospecção e aplicação de micro-organismos com potencial antagonico contra fitopatógenos, em várias culturas e diferentes agentes etiológicos (Tabela 1).

Tabela 1. Agentes causais de doenças de plantas e respectivos antagonista discutidos na literatura.

Doenças	Agentes causais	Antagonistas	Referência
Ferrugem da folha	<i>Puccinia recondita</i> , <i>P. triticina</i>	<i>Chaetomium spp.</i> , <i>T. harzianum</i>	(LARRAN et al., 2016) (VEY, 2017)
Murcha de fusarium, Fusariose	<i>Fusarium sp.</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i>	<i>Trichoderma spp.</i> , <i>Cladosporium oxysporum</i> , <i>Pestalotiopsis cocculi</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Penicillium crustosum</i>	(LARRAN et al., 2016) (ZHENG et al., 2017)
Podridão das raízes	<i>Alternaria panax</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>Phoma herbarum</i> , <i>Mycocentrospora sp.</i>	<i>C. oxysporum</i> , <i>Cladosporium sp.</i> , <i>Pestalotiopsis cocculi</i> , <i>T. koningiopsis</i> , <i>P. chrysogenum</i>	(ZHENG et al., 2017)
Antracnose	<i>Colletotrichum musae</i> , <i>C. truncatum</i>	<i>Brachysporiella sp.</i> , <i>Dictyochaeta sp.</i> , <i>Gonytrichum sp.</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. boulardii</i> , <i>T. asperellum</i>	(OLIVEIRA et al., 2019) (HELING et al., 2017)
Mofa cinzento, Mofa- Branco	<i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Curvularia inaequalis</i> , <i>C. eragrostidis</i> , <i>Albatrellus dispansus</i>	(GABARDO et al., 2020)
Pinta preta grande	<i>Alternaria solani</i>	<i>Curvularia inaequalis</i> , <i>C. eragrostidis</i> , <i>Albatrellus dispansus</i>	(SOLINO et al., 2017)
Mancha alvo	<i>Corynespora cassiicola</i>	<i>Cophinforma atrovirens</i> , <i>Phanerochaete sp.</i> , <i>Diaporthe sp.</i> , <i>Agaricales sp.</i> , <i>Phomopsis sp.</i>	(AMARAL, 2020) (COSTA, 2018)
Damping off	<i>Colletotrichum gossypii</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Alternaria spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Trichoderma sp.</i>	(CRUZ et al., 2020)

Vale a pena salientar que o alto custo de aquisição dos produtos químicos (agrotóxicos), a perda de eficiência do princípio ativo devido à resistência dos organismos, comumente causada por variabilidade genética do agente etiológico e todos os problemas ambientais já conhecidos ocasionados pelo uso excessivo e irracional fomentam a necessidade de busca por novos meios de produção agrícola. O uso do controle biológico representa uma das principais alternativas para produção de matéria-prima e alimentos com qualidade e consciência (MORANDI et al., 2009).

De acordo com Medrado (2019) somente a partir do crescimento da percepção sobre as interações ecológicas que envolvem todos os organismos e o entendimento de que há um equilíbrio dinâmico nos ecossistemas naturais, foi possível ampliar o espectro de ação do controle biológico para estudos que envolvessem a utilização de micro-organismos também para o controle de doenças. Nesse sentido, é importante observar que nos ambientes degradados ou em processo de degradação, seja natural ou antrópica, há presença de vida microbiana, a qual pode ser utilizada como subsídio biológico para pesquisas e aplicações na agricultura.

2.3.4 Bioinsumos fúngicos e remineralizadores no desenvolvimento agrícola

A inoculação de micro-organismos promotores do crescimento vegetal, isolados ou em mistura, pode elevar a porcentagem de sobrevivência e crescimento das plantas, como sua produtividade (OLIVEIRA et al., 2010). Dentre os fatores responsáveis pelo aumento na busca de insumos ambientalmente sustentáveis, a aplicação indiscriminada de fertilizantes inorgânicos e agrotóxicos tem grande relevância (GONÇALVES JÚNIOR, 2013), especialmente pelos impactos causados na saúde humana e no meio ambiente.

No entanto, quando se pensa em alimentação global, tais insumos agrícolas ainda são de grande importância (PRASHAR; SHAH, 2016). As culturas agrícolas necessitam de nutrientes essenciais para seu desenvolvimento e rendimento (GRANT et al., 2005) e para isso, é necessário que estejam em quantidades adequadas e disponibilizadas no solo, para serem assimiladas pelas plantas. Dessa forma, os fertilizantes são fontes rápidas e de fácil aplicabilidade para oferecer o padrão nutricional exigido para um bom rendimento das plantas (CAMARGO, 2012). Isso se dá pelo fato de que apresentam resultados considerados imediatos, bem como a baixa divulgação sobre a existência de insumos sustentáveis como fertilizantes biológicos, especialmente no que se trata de produtores com menor assistência técnica. Ademais, ainda se há uma baixa preocupação dos profissionais quanto a utilização desses produtos biológicos em larga escala.

Assim, a preocupação com os danos à saúde humana, animal e ambiental vem crescendo, junto com a busca por componentes biológicos na formulação de novos insumos (LUCON, 2016). Nesse contexto, uma prática que vem sendo bastante estudada é a utilização de micro-organismos do solo no controle biológico de doenças e como biofertilizantes (ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017; HADDAD, et al., 2017). Tais

estudos são uma alternativa ambientalmente correta para novas aplicações desses insumos nos solos agrícolas (KHAN; ZAIDI; WANI, 2007). A microbiota do solo é responsável por funções de grande importância para o sistema como um todo. A degradação de compostos orgânicos, conseqüente disponibilidade de nutrientes e, portanto, auxiliando no crescimento das plantas (KHAN; ZAIDI; MUSARRAT, 2014).

Nas interações simbióticas entre fungos e o sistema radicular das plantas o micélio do fungo colonizando a raiz se estende para o solo e absorve água e nutrientes. Por outro lado, os fungos se beneficiam ao utilizar em seu metabolismo produtos fixados pelo processo fotossintético das plantas (WANG; QIU, 2006).

Segundo Silva et al. (2019) a aplicação de bioinsumos/biofertilizantes proporciona o aumento e adensamento da população microbiana do solo, incluindo aquela composta por fungos filamentosos. Desse modo, entende-se que o efeito benéfico exercido por essa tecnologia vai além da demanda nutricional das plantas, mas proporciona ao ambiente a manutenção de sua qualidade, como por exemplo na sanidade do solo, apresentando também caráter supressivo, o qual pode ocorrer a médio prazo.

Dentre as alternativas que podem ser aplicadas de modo conjunto à inoculação de micro-organismos promotores de crescimento como os fungos rizosféricos filamentosos, pode ser citada a rochagem, a qual compreende como uma técnica baseada na adição de pó de rocha de variados tipos de rochas ou minerais que possuam a habilidade de alterar positivamente a fertilidade dos solos (WELTER et al., 2011). Essa técnica pode ser considerada como um tipo de remineralização, onde o pó de rocha é utilizado para rejuvenescer solos pobres ou lixiviados, sendo fonte natural de fósforo, potássio, cálcio e magnésio, além de uma série de micronutrientes indispensáveis à nutrição vegetal (THEODORO et al., 2006), os quais seriam originalmente oriundos da adubação mineral convencional.

Essa tecnologia, conforme o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pretende modificar a tendência no uso de insumos químicos, bem como tornar-se uma prática acessível ao agricultor, especialmente pelo seu baixo custo. Remineralizador pode ser definido então como um material de origem mineral que sofreu redução e classificação de tamanho por processos mecânicos e que altera índices de fertilidade do solo por meio da adição de macro e micronutrientes para as plantas, bem como promove a melhoria das propriedades físicas, químicas como também da atividade biológica dos solos (BRASIL, 2013).

Dada a sua natureza geológica, a maioria das rochas precisa ser processada para estimular e acelerar o processo de liberação dos seus nutrientes. A moagem, em diferentes granulometrias, é o primeiro passo para facilitar a disponibilização dos macro e micronutrientes, uma vez que provoca o aumento da superfície de contato e, conseqüentemente, facilita a ação de processos intempéricos e microbiológicos, aumentando a solubilidade mineral. Logo, a aplicação das técnicas de remineralização por meio de rochagem em associação com a inoculação de sementes é uma alternativa promissora, uma vez que micro-organismos como os fungos rizosféricos possuem a habilidade de solubilizar nutrientes para que estes sejam disponibilizados às plantas de interesse (SILVA et al., 2021), entretanto, estudos que tratam dessa associação ainda são incipientes, porém necessários para adoção de técnicas e desenvolvimento de bioprodutos para aplicação agrícola.

Nesse tocante, ao se aliar os diferentes métodos para desenvolvimento agrícola, a peletização de sementes pode ser uma alternativa que facilita o manejo de sementes, especialmente na etapa de plantio, facilitando uniformização dos tamanhos da semente, por exemplo, conforme elucida Santos (2016). Conforme Cruz (2019) a peletização de sementes juntamente com fontes de fosfato proporcionam o desenvolvimento biométrico e fisiológico de plantas de café. Nesse sentido, a peletização de sementes e fungos para desenvolvimento vegetal já é uma realidade, porém ainda separada. Assim, Melo et al. (2020) estudando a peletização de sementes de milho crioulo com pó de rocha afirmam que goma de mandioca proporciona o melhor agente aderente nesse processo. Portanto, há uma lacuna de pesquisas que demonstrem a ação conjunta dos remineralizadores em adição aos fungos filamentosos promotores de crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

- AGUADO-SANTACRUZ, G. A.; MORENO-GÓMEZ, B.; JIMÉNEZ-FRANCISCO, B.; GARCÍA-MOYA, E.; PRECIANDO-ORTIZ, R. E. Impacto de lós sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: uma síntesis. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 35, n. 1, p. 9-21, 2012.
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 6, p. 1-8, 2017.
- ALVES, L.; SILVA FILHO, G. N. Produção de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) em presença de diferentes fontes fosfatadas e microorganismos solubilizadores de fosfatos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 557-562, 2009.
- AMARAL, A. O. **Diversidade de fungos endofíticos de clones de seringueira e seu potencial para produção de enzimas extracelulares e biocontrole de fungos fitopatogênicos**. 2020. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – UFAM, Manaus.
- ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Oregon: Timber Press, 2001. 776p.
- ARAÚJO FILHO, J. C. de; SANTOS, J. C. P. dos; PARAHYBA, R. da B. V.; OLIVEIRA NETO, M. B. de; BARROS, A. H. C.; MARQUES, F. A.; AMARAL, A. J. do. **Zoneamento agroecológico do Estado de Alagoas: levantamento de reconhecimento de baixa e média intensidade dos solos do Estado de Alagoas**. 1. ed. Recife: Embrapa Solos, 2012. 238p.
- ARTICULAÇÃO SEMIÁRIDO BRASILEIRO (ASA). 2020. **Semiárido**. Disponível em: < <https://www.asabrasil.org.br/semiario> >. Acesso em: 10 de agosto de 2021.
- BARBOSA, R. T.; MONTEIRO, T. S. A.; COUTINHO, R. R.; SILVA, J. G.; FREITAS, L. G. *Pochonia chlamydosporia* for controlling root-knot nematode in banana. **Nematropica**, v. 49, p. 99-106, 2019.
- BARROS, V. D. C. LIRA JUNIOR, M. A.; SANTOS, M. V. F.; COSTA, A. F.; ARRUDA, A. M.; SOUZA, C. A. Biodiversidade rizobiana em função de solo e clima no semiárido pernambucano. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 24, n. 1, p. 1-6, fev. 2019.
- BARROSO, C. B.; NAHAS, E. Solubilização do fosfato de ferro em meio de cultura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 529-535, 2008.
- BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. **Cactaceae**. In: KUBITZKI, K.; ROHWER, J.G.; BITTRICH, V. (Ed.). The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag, 1993. v. 2, p. 161-197.

Berg, G. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 11-18, 2009.

BRAGA, G. **Eficiência de fosfatos com solubilidade variável em água em solos com capacidade de fixação de fósforo induzida**. 2006, 83f. (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2006.

BREZA-BORUTA, B.; LEMANOWICZ, J.; BARTKOWIAK, A. Variation in biological and physicochemical parameters of the soil affected by uncontrolled landfill sites. **Environmental Earth Sciences**, v. 75, n. 3, p. 201, 2016.

CAMARGO, M. S. A importância do uso de fertilizantes para o meio ambiente. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 2, p. 1-4, 2012.

CHAVES, E. . F.; BARROS, R. F. M. Cactáceas: recurso alimentar emergencial no semiárido, Nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 9, n. especial, p. 129-135, 2015.

CHEN, X. M.; DONG, H. L.; HU, K. X.; SUN, Z. R.; CHEN, J. A.; GUO, S. X. Diversity and antimicrobial and plant-growth-promoting activities of endophytic fungi in *Dendrobium loddigesii* Rolfe. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 29, p. 328-337, 2010.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1983. 539p.

COSTA, S. C. T. D. **Fungos endofíticos e extratos vegetais no controle alternativo da mancha-alvo do tomateiro**. 2018. 98f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) – UFAM, Manaus.

CRUZ, J. M. F. L.; MEDEIROS, E. C.; FARIAS, O. R.; SILVA, E. C.; NASCIMENTO, L. C. Microbiolization of organic cotton seeds with *Trichoderma* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Seed Science**, v. 42, P. e202042021, 2020.

CRUZ, R. S. **Crescimento e respostas fisiológicas de Coffea arabica inoculado com fungos micorrízicos arbusculares e adubado com fosfato de liberação lenta**. 2019. 95 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

CUI, H.; ZHOU, Y.; GU, Z.; ZHU, H.; FU, S.; YAO, Q. The combined effects of cover crops and symbiotic microbes on phosphatase gene and organic phosphorus hydrolysis in subtropical orchard soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 82, p. 119-126, 2015.

EGAMBERDIEVA, D.; WIRTH, S. J.; ALQARAWI, A. A.; ABD ALLAH, E. F.; HASHEM, A. Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. **Frontiers in microbiology**, v. 8, 2017.

FITZE, D.; WIEPNING, A.; KALDORF, M.; LUDWIG-MÜLLER, J. Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in mayze. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 11, p. 1210-1219, 2005.

GABARDO, G.; PIRA, M. D.; PRESTES, A. M. C.; SILVA, H. L. *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos *in vitro*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R.; QUEIROZ, L. P.; RAPINI, A. **To set the scene**. In: QUEIROZ, L. P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A. M. (Ed.). Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity. Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia, 2006. p. 11-15.

GONÇALVES JÚNIOR, A. C. Descontaminação e monitoramento de águas e solos na região amazônica utilizando materiais adsorventes alternativos , visando a remoção de metais pesados tóxicos e pesticidas. **Inclusão Social**, v. 6, n. 2, p. 105-113, 2013.

GRANT, C.; BITTIMAN, S.; MONTREAL, M.; PLENCHETTE, M.; MOREL, C. Soil and fertilizer phosphorus : Effects on plant P supply and mycorrhizal development. **Journal of Plant Science**, v. 85, n. 1, p. 3-14, 2005.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; DOS SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, 2000.

GYANESHWAR, P.; NARESH KUMAR, G.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v. 245, n. 1, p. 83-93, 2002.

HADDAD, P. E.; LEITE, L. G.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R.. Selection of *Trichoderma* spp. strains for the control of *S. sclerotiorum* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1140-1148, 2017.

HEIMPEL, G. E.; MILLS, N. J. **Biological control**: ecology and applications. 2017.

HELING, A. L.; KHUN, O. J.; STANGARLIN, J. R.; HENKEMEIER, N. P.; COLTRORONCATO, S.; GONÇALVES, E. D. V. Controle biológico de antracnose em pós colheita de banana “Maçã” com *Saccharomyces* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 3, n. 1, p. 49-51, 2017.

KALDORF, M.; LUDWIG-MÜLLER, J. AM fungi might affect the root morphology of maize by increasing indole-3-butyric acid biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 109, n. 1, p. 58-67, 2000.

KAVAMURA, N. V.; ESPOSITO, E. Biotechnological Strategies Applied to the Decontamination of Soils Polluted with Heavy Metals. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 61-9, 2009.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, n. 3, p. 473-480, 2004.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 27, p. 29-43, 2007.

KÖHL, J.; DE GEIJN, H.-V.; HAAS, L.-D.; HENKEN, B.; HAUSCHILD, R.; HILSCHER, U.; DER PLAS, C. V.; VANDEN BOSCH, T.; WIKSTRÖM, M. Stepwise screening of candidate antagonists for biological control of *Blumeria graminis* sp. Tritici. **Biological Control**, v. 136, p. 104-108, 2019.

LARRAN, S.; SIMON, M. R.; MORENO, M. V.; SATAMARINA SIURANA, M. P.; PARELLÓ, A. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. **Biological Control**, v. 92, n. 1, p. 17-23, 2016.

LIMA, J. V. L. PINHEIRO, M. S.; FIÚZA, L. M. C. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Populações microbianas cultiváveis do solo e serrapilheira de uma unidade de conservação no semiárido brasileiro. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, p. 2300-2316, 2014.

LUDWIG-MÜLLER, J. **Hormonal balance in plants during colonization bymycorrhizal fungi,**” In: Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function, eds Y.Kapulnik and D. D. Douds (Dordrecht: Springer), 2000.

MAN, S. M.; KAAKOUSH, N. O.; OCTAVIA, S.; MITCHEL, H. The Internal Transcribed Spacer Region, a New Tool for Use in Species Differentiation and Delineation of Systematic Relationships within the *Campylobacter* Genus. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 10, p. 3071-3081, 2010.

MEDRADO, P. H. S. **Fungos de solo no controle biológico de Fitopatógenos.** 2019, 112f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2019.

MEIADO, M. V.; MACHADO, M. C.; ZAPPI, D. C.; TAYLOR, N. P.; SIQUEIRA FILHO, J. A. **Cactos do Rio São Francisco:** atributos ecológicos, distribuição geográfica e endemismo. In: SIQUEIRA FILHO, J. A. (Org.). *A Flora das Caatingas do Rio São*

Francisco: história natural e conservação. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio Editorial, 2012. p. 264-305.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1988. 488p.

MELO, L. D. F. A.; MELO JUNIOR, J. L. A.; CRISÓSTOMO, N. M. S.; BERTO, T. S.; RAMOS, M. G. C.; SILVA, L. G. Uso de agentes aderentes na peletização de sementes de milho crioulo com pó de rocha. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n.3, jul.-set., p.245-249, 2020.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas no Brasil: marcos históricos do controle biológico de doenças de plantas no Brasil**. In: Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Ed(s). Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, São Paulo, 2009. pp. 08-14.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas no Brasil: marcos históricos do controle biológico de doenças de plantas no Brasil**. In: MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, São Paulo, 2009. p. 08-14.

MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 251, p. 73-82, 2009.

MOREIRA, A. L. L.; ARAÚJO, F. F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. Como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**, v. 37, n. 5, p. 933-943, 2013.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2 ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

NAHAS, E.; CENTURION, J.; ASSIS, L. Efeito das características químicas dos solos sobre os microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 18, n. 1, p. 49-53.

NARLOCH, C.; OLIVEIRA, V. L.; ANJOS, J. T.; SILVA FILHO, G. Respostas da cultura do rabanete à inoculação de fungos solubilizadores de fosfatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 841-845, 2002.

NASCIMENTO, S. P. G.; SILVA, J. M.; SANTOS, E. O.; SILVA, P. V.; SANTOS, J. R. U.; SANTOS, T. M. C. Impactos ambientais da produção vegetal no processo de desertificação do semiárido alagoano: o caso de Ouro Branco-AL. **Ciência Agrícola**, v. 16, n. suplementar, p. 31-35, 2018.

NASCIMENTO, S. S.; LIMA, E. R. V.; LIMA, P. P. S. Uso do ndvi na análise temporal da degradação da caatinga na sub-bacia do alto Paraíba. **Revista OKARA: Geografia em debate**, v. 8, n. 1, p. 72-93, 2014.

NORDBRING-HERTZ, B. Morphogenesis in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* – an extensive plasticity of infection structures. **Mycologist**, v. 18, n. 3, p. 125-133, 2004.

NORMANLY, J. Approaching cellular and molecular resolution of auxin biosynthesis and metabolism. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 1, 2010.

OLIVEIRA, A. G.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SANTOS, G. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149-155, 2012.

OLIVEIRA, S. A. B.; BARBOSA, F. R.; ANDRADE, E. A.; FERRARINI, S. R.; BONALDO, S. M. Compostos voláteis de fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional no controle *in vitro* de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 3, p. 302-307, 2019.

PAL, K. K.; GARDENER, B. M. **Biological control of plant pathogens**. The plant health Instructor. Disponível em:
<<https://pdfs.semanticscholar.org/57c8/b8182119510f548c56be5f0496ac1924c484.pdf>>
Acesso em: setembro 2020.

PECH, J. C.; BEN AMOR, M.; ZHENGGUO, L.; FIKRI, EL Y.; AYUB, R. A.; ROMOJARO, F.; FLORES, F.; BERNADAC, A.; BOUZAYEN, M.; LATCHE, A. **Biotechnology of fruit ripening. Down-regulation of ACC Oxidase gene expression in the melon**. In: NATH, P.; MATTOO, A.K.; RANADE, S.A.; WEIL, J.H.. Molecular insight in plant biology. Enfield: Ed. Science Publishers, 2003. p.151-157p.

PEIX, A.; RIVAS-BOYERO, A. A.; RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELASQUEZ, E. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 1, p. 103-110, 2001.

PHILIPPOT, L.; RAAIJMAKERS, J. M.; LEMANCEAU, P.; DER PUTTEN, W. H. V. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 789-799, 2013.

PRASHAR, P.; SHAH, S. **Impact of Fertilizers and Pesticides on Soil Microflora in Agriculture**. In: Sustainable Agriculture Reviews, 2016. pp. 331-361.

PRUDÊNCIA, M. A.; CÂNDIDO, D. K. Degradação da vegetação nativa do município de Assú/RN: indicadores e ações mitigadoras. **Sociedade e Território**, v. 21, n. 1-2 (Edição Especial), p. 144 -156, 2009.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biology of plants**. [S.l.]: Macmillan., 2005

ROCHA, F. R.; PAPINI-TERZI, F. S.; NISHIYAMA JUNIOR, M. Y.; VÊNCIO, R. Z. N.; VICENTINI, R.; DUARTE, R. D. C.; ROSA JUNIOR, V. E.; VINAGRE, F.; BARSALOBRES, C.; MEDEIROS, A. H.; RODRIGUES, F. A.; ULIAN, E. C.; ZINGARETTI, S. M.; GALBIATTI, J. A.; ALMEIDA, R. S.; FIGUEIRA, A. V. O.; HEMERLY, A. S.; SILVA FILHO, M. C.; MENOSSI, M.; SOUZA, G. M. Signal transduction related responses to phytohormones and environmental challenges in sugarcane. **BMC Genomics**, v. 8, n. 1, 2007.

SAHARAN, B.; NEHRA, V.. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medical Research**, v. 21, p. 1-30, 2011.

SANTOS J. C.; LEAL, I. R.; ALMEIDA-CORTEZ, J. C.; FERNANDES, G. W.; TABARELLI, M. Caatinga: the scientific negligence experienced by a dry tropical forest. **Tropical Conservation Science**, v. 4, n. 3, p. 276-286, 2011.

SCERVINO, J. M.; GOTTLIEB, A.; SILVANI, V. A.; PERGOLA, M.; FERNANDEZ, L.; GODEAS, A. M. Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1753-1756, 2009.

semiarido>. Acesso em: 10 de agosto de 2020.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de Fosfato por Microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 311-319, 2000.

SILVA, D. P.; FREITAS, C. E. S.; OLIVEIRA, P. B.; SILVA, C. C.; CRISTOFOLI, J. B. Efeito de biofertilizante inoculante de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. em áreas de cultivo agrícola no município de Nova Tebas – Paraná. **Brazilian Journal of Animal and Environment Research**, v. 2, n. 3, p. 1020-1027, edição especial, 2019.

SILVA, J. M.; CRISTO, C. C. N.; MONTALTO, Y. C.; SILVA, C. S.; SENA, E. O. A.; VIGODERIS, R. B.; BARROSO, G.; BRITO NETO, J. S.; OLIVEIRA, J. U. L.; SANTOS, T. M. C. Atividade e população microbiana de um podzólico vermelho amarelo sob sistemas de cultivo orgânico e convencional de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 340-346, 2019.

SILVA, J. M.; NASCIMENTO, S. P. G.; MASSAHUD, R. T. R.; SANTOS, T. M. C.; LIMA, G. S. A. **Atributos químicos e biológicos do solo**: Um estudo no Semiárido Alagoano. In: GOMES, I. A.; MEDEIROS, M. B.; BATISTA, M. C.; GONZAGA, K. S.; FELIX, R. J. S.; SILVA JUNIOR, J. M.; SANTOS, J. P. O. Ensaio interdisciplinares em ciências agrárias no Nordeste do Brasil, Ananindeua: Itacaiúnas, 2019. pp. 42-80.

SILVA, J. M.; SANTOS, T. M. C.; ALBUQUERQUE, L. S.; MONTAALDO, Y. C.; OLIVEIRA, J. U. L.; SILVA, S. G. M.; NASCIMENTO, M. S.; TEIXEIRA, R. R. O. Potential of the endophytic bacteria (*Herbaspirillum* spp. and *Bacillus* spp.) to promote sugarcane growth. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 8, p. 754-760, 2015.

SILVA, J. M.; TEIXEIRA, R. R. O.; ROCHA, J. R.; SANTOS, T. M. C. *In vitro* and *in vivo* antagonism of *Screrotium rolfsii* Sacc by strains of *Trichoderma* spp.. **International Journal of Agriculture, Environment and Bioresearch**, v, 2, n. 1, p. 60-67, 2017.

SOLINO, A. J. S.; OLIVEIRA, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; ALENCAR, M. S. R.; RIBEIRO, L. M. Potencial antagonista e controle *in vitro* de *Alternaria solani* por fungos sapróbios. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 3, p. 199-204, 2017.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007.

SUN, M. H.; GAO, L.; SHI, Y. X.; LI, B. J.; LIU, X. Z. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 93, n. 1, p. 22-28, 2006.

SUPERINTENDÊNCIA DO DESENVOLVIMENTO DO NORDESTE (SUDENE). 2017. **Delimitação do semiárido**. Disponível em: < <http://www.sudene.gov.br/delimitacao-do->

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: Cengage learning, 2012, 774p.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. Diversidade e endemismo das Cactaceae na Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**, v. 4, p. 1-2, 2008.

TORTELLA, G. R.; RUBILAR, O.; GIANFREDA, L.; VALENZUELA, E.; DIEZ, M. C. Enzymatic characterization of Chilean native wood-rotting fungi for potential use in the bioremediation of polluted environments with chlorophenols. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 2805-2818, 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, CL. **Microbiologia**. 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 2016.

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; VALÉRO, J. R. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 1-20, 2007.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

VEY, R. T. **Trichoderma e silicato de potássio no desenvolvimento e na redução da ferrugem da folha no trigo**. 2017. 53f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – UFSM, Santa Maria.

VINHA, A. P. C.; CARRARA, B. H.; SOUZA, E. F. S.; SANTOS, J. A. F.; ARANTES, S. A. C. ADSORÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS DE REGIÕES TROPICAIS. **Nativa**, v. 9, n. 1, p. 30-35, 2021.

VIVAS, J. M. S.; SILVEIRA, S. F.; SANTOS, P. H. D.; CARVAHO, B. M.; POLTRONIERI, T. P. S.; JORGE, T. S.; SANTOS, J. S.; KUROSAWA, R. N. F.; MORAES, R. Antagonism of fungi with biocontrol potential of papaya black spot caused by *Asperisporium caricae*. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 5, p. 827-833, 2018.

VURUKONDA, S. S. K. P., VARDHARAJULA, S., SHRIVASTAVA, M., SKZ, A. Multifunctional *Pseudomonas putida* strain FBKV2 from arid rhizosphere soil and its growth promotional effects on maize under drought stress. **Rhizosphere**, v.1, p.4-13, 2016.

WANG, B.; QIU, Y. L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. **Mycorrhiza**, v. 16, n.5, p.299-363, jul. 2006.

YUAN, Z. L.; LIN, F. C.; ZHANG, C. L.; KUBICEK, C. P. A new species of *Harpophora* (Magnaporthaceae) recovered from healthy wild rice (*Oryza granulata*) roots, representing a novel member of a beneficial dark septate endophyte. **FEMS Microbiology Letters**, v. 307, p. 94-101, 2010.

ZHANG, R., WANG, B.; OUYANG, J.; LI, J.; WANG, Y. *Arabidopsis* Indole Synthase, a Homolog of Tryptophan Synthase Alpha, is an Enzyme Involved in the Trp-independent Indole-containing Metabolite Biosynthesis. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, n. 9, p. 1070-1077, 2008.

ZHAO, J.-L.; ZHOU, L.-G.; WU, J.-Y. Promotion of *Salvia miltiorrhiza* hairy root growth and tanshinone production by polysaccharide–protein fractions of plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus*. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p. 1517-1522, 2010.

ZHENG, Y.; MIAO, C-P.; CHEN, H-H.; HUANG, F-F.; XIA, Y-M.; CHEN, Y-W.; ZHAO, L-X. Endophytic fungi harbored in *Panax notoginseng*: diversity and potential as

biological control agents against host plant pathogens of root-rot disease. **Journal of Ginseng Research**, v. 41, n. 3, p. 353-360, 2017.

CAPÍTULO II

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS NO SEMIÁRIDO ALAGOANO

RESUMO - A dinâmica da população microbiana acompanha a evolução do meio ambiente em função de todos os processos decorrentes das mudanças climáticas. De igual modo, as plantas associadas a esses micro-organismos também estão passíveis a tais mudanças. Essa relação pode ser concebida como uma simbiose, onde mesmo em ambientes extremamente degradados, a relação entre plantas e micro-organismos favorece o estabelecimento de cultivos para o desenvolvimento agrícola e proporciona prover alimento para humanos e animais domésticos. Assim, as cactáceas, ao longo do tempo, adquiriram mecanismos para se estabelecer em ambientes escassos de água e nutrientes. Objetivou-se por meio desse estudo, o isolamento e identificação de fungos rizosféricos em associação com cactáceas *Opuntia cochenillifera* de ocorrência espontânea em uma área sob processo exponencial de salinização e desertificação, bem como modelar seus atributos químicos e mineralógicos. A área experimental está localizada no município de Ouro Branco-AL (Ponto A (O: 37° 24' 45'' S: 9° 4' 47,3'') e Ponto B (O: 37° 24' 53,1'' S: 9° 4' 39,3'')). Para determinação da população microbiana, foi realizada coleta de solo na profundidade 0-20 cm da superfície na área correspondente à rizosfera, em dois pontos distintos. As amostras foram pesadas em separado 1g de cada ponto coletado para diluição seriada decimal. A diluição foi realizada até a fração 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} e inoculada em placas de Petri contendo meios de cultivo seletivos. Posteriormente foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) e identificação morfológica das colônias. Os isolados foram submetidos à extração de DNA pela técnica de extração com tampão CTAB, seguida da amplificação por meio da PCR e confirmação da amplificação através de gel de agarose. Posteriormente, os produtos da PCR foram encaminhados à Macrogen® para sequenciamento. Após este, as sequências foram analisadas nos softwares Staden Package e MEGA, seguidos da pesquisa BLASTn no banco de dados NCBI-GenBank. Assim, foi possível observar a presença de fungos rizosféricos em associação com *O. cochenillifera*, em área em processo de desertificação e salinização. Por meio da análise filogenética da região ITS do rDNA foi possível identificar a presença de espécies dos gêneros *Coprinellus*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Neurospora*. Essas espécies são conhecidas na literatura pela sua riqueza metabólica, sendo aplicáveis a processos biotecnológicos para promoção de crescimento em plantas cultivadas, bem como outros processos de interesses industriais.

Palavras-chave: diversidade microbiana, *Internal Transcribed Spacer*, Eurotiales.

ISOLATION AND MORFOMOLECULAR IDENTIFICATION OF CACTII ASSOCIATED RIZOSPHERIC FUNGI FROM ALAGOANO SEMIARID

ABSTRACT - The dynamics of the microbial population follows the evolution of the environment as a result of all processes arising from climate change. Likewise, plants associated with these microorganisms are also susceptible to such changes. This relationship can be conceived as a symbiosis, even in extremely degraded environments, in relation to plant-micro-organisms, which favors the establishment of crops for agricultural development and provides food for humans and domestic animals. Thus, as cactuses, over time, they acquired mechanisms to establish themselves in scarce environments of water and food. The aim of this study was the isolation and identification of rhizospheric fungi in association with spontaneously occurring cacti (*Opuntia cochenillifera*) in an area of exponential process of salinization and desertification, as well as to model their chemical and mineralogical attributes. An experimental area is located in the municipality of Ouro Branco-AL (Point A (W: 37° 24 '45' 'S: 9° 4' 47.3 ") and Point B (W: 37° 24 '53.1' 'S : 9° 4 '39.3' ')). To determine the microbial population, soil was collected from a depth of 0-20 cm from the surface corresponding to the rhizosphere, at two different points. The frightened ones were weighed separately 1g from each point collected for serial decimal dilution. The dilution was carried out to fraction 10^{-3} , 10^{-4} and 10^{-5} and inoculated in Petri dishes containing selective culture media. Subsequently, a count of colony forming units (CFU) and morphological identification of the colonies was performed. the strains were subjected to DNA extraction using the CTAB buffer extraction technique, followed by amplification through PCR and confirmation of amplification using an agarose gel. Subsequently, the PCR products were sent to Macrogen® for sequencing. After this, the sequences were analyzed in the Staden Package and MEGA software, followed by the BLASTn search in the NCBI-GenBank database. Thus, it was possible to observe the presence of rhizospheric fungi in association with *O. cochenillifera*, in an area undergoing desertification and salinization. Through the phylogenetic analysis of the rDNA ITS region, it was possible to identify the presence of species of the genera Coprinellus, Paecilomyces, Aspergillus, Penicillium and Neurospora. These species are in the literature for their metabolic richness, being applicable to biotechnological processes for growth promotion in cultivated plants, as well as other processes of industrial interest.

Keywords: microbial diversity, *Internal Transcribed Spacer*, Eurotiales.

INTRODUÇÃO

O solo, por sua condição natural, é um ambiente propício a uma vasta diversidade de organismos, como os fungos e bactérias. Parte desses micro-organismos vive em simbiose com várias espécies de plantas cultivadas ou não, e que têm potencialidades na produção vegetal. Os micro-organismos benéficos como actinomicetos, bactérias comuns e fungos filamentosos têm sido estudados para incremento agrícola, sendo possível utilizar de suas funções para desenvolvimento de processos. A ação da microbiota do solo confere benefícios como fixação biológica de N, solubilização de fosfato e controle biológico de fitopatógenos e pragas agrícolas, o que já tem sido demonstrado na literatura (SILVA et al., 2017; BARROS et al., 2019).

Porém, para a manutenção da microbiota do solo, da vegetação e conseqüentemente dos seus atributos químicos, é necessária a adoção de práticas de conservação perante o sistema de cultivo e plantas adotadas na área/região. O Semiárido brasileiro tem sofrido com o crescimento exponencial da degradação ambiental, especialmente no que se toca ao solo, onde observa-se na paisagem as mudanças sofridas, especialmente as mazelas ocasionadas pelas más práticas agrícolas (NASCIMENTO et al., 2018).

Esse enorme processo de degradação, vem sendo ocasionado pelo mau uso do mesmo ou da água, acarretando em processos de salinização, desertificação e redução da diversidade biológica em muitos ecossistemas e agroecossistemas, o que tem resultado em uma constante preocupação quanto à recuperação de áreas degradadas e conservação dos ambientes ainda resistentes.

A vegetação do Semiárido é constituída por várias espécies, sendo as Cactaceae consideradas endêmicas dessa região (CHAVES; BARROS, 2015). Desse modo, os nativos têm desde o passado utilizado dessa família botânica como recurso para a providência de alimento, destinado especialmente para os animais (MAMEDE, 2017). Por outro lado, nota-se deficiente a prática de manejos conservacionistas para tais áreas, ficando à mercê das próprias espécies vegetais a manutenção de propagação de descendentes para que a espécie se mantenha, o que ocasiona em mais um fator que proporciona os processos de degradação ambiental.

A investigação de micro-organismos do solo tendo em vista a prospecção para fins agropecuários, farmacêuticos e industriais é constante e dinâmica. O solo é compreendido como um compartimento vivo, abrigando uma vasta comunidade de organismos, dentre

eles os fungos, os quais possuem habilidade de estabelecer relações harmônicas com as plantas. Porém, quando se trata de estudos relacionados às interações entre micro-organismos e cactáceas do semiárido, maior parte dos trabalhos têm sido focados em áreas preservadas (SILVA et al., 2019), o que faz com que dados reais muitas vezes não sejam explorados.

Dada a importância das relações entre esse grupo de micro-organismos e as plantas, há um certo interesse em se conhecer processos relacionados a eles, especialmente, aqui, em relação aos seus caracteres agropecuários, industriais e farmacêuticos. Portanto, ferramentas como a morfologia são fundamentais para a identificação desses micro-organismos. Porém, em certos momentos, a morfologia não é suficiente para que se tenha a identificação desses organismos a nível de espécie.

Assim, técnicas moleculares desenvolvidas ao longo dos anos a partir da Reação em Cadeia da Polimerase (*Polimerase Chain Reaction* – PCR) e o sequenciamento do DNA têm sido de grande valia para o estudo e identificação dos organismos. Assim, dentre os marcadores moleculares utilizados para identificação de fungos, ganha destaque a região ITS (*Internal Transcribed Spacer*), a qual faz a separação dos genes 18S e 28S rDNA, podendo ser amplificada com primers ancorados a estas duas regiões (FUNGARO, 2000). Essas regiões têm sido utilizadas em estudos filogenéticos pelo fato de ser conservada dentre as espécies e com baixas variações a nível de gênero (LEE; TAYLOR, 1996).

É imperativo que se considere de importância social e ecológica a conservação e recuperação de ambientes degradados ou em processos de degradação. Assim, o estudo da população e diversidade microbiana de solos em áreas salinizadas e desertificadas são de suma importância para fomentar dados que corroborem para ações que contribuam para processos de recuperação das mesmas, especialmente para desenvolvimento agrário. Assim, objetivou-se por esse estudo a bioprospecção de fungos rizosféricos associados à cactáceas do Semiárido alagoano bem como sua identificação por meio de ferramentas morfológicas e moleculares.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Isolamento e estimativa da população fúngica e atributos do solo

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia Molecular, ambos lotados no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, onde os isolados estão conservadas na coleção de micro-organismos do Laboratório de Microbiologia Agrícola.

Amostras de solo foram coletadas em dois pontos da zona rural do município de Ouro Branco-AL, os quais foram registrados por meio do uso de um equipamento *Global Processing System* (GPS) (Ponto A O: 37° 24' 45,9'' S: 9° 4' 47,3''; Ponto B O: 37° 24' 51,0' S: 9° 4' 38,3''), numa área que se encontra em processo de desertificação e salinização (NASCIMENTO et al., 2018), como apresentado na Figura 5. Na área há ocorrência de um plantio abandonado de palma forrageira (*Opuntia cochenillifera*), sendo que atualmente sua propagação se dá de modo espontâneo.

De cada ponto foram coletadas amostras na profundidade 0-20 cm a partir da camada superficial da rizosfera de *O. cochenillifera*. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel pardo, identificadas e encaminhadas ao laboratório para as análises químicas e biológicas. O encaminhamento das amostras foi realizado em temperatura ambiente, seguido de resfriamento em geladeira comum até realização das análises. Para o isolamento e contagem dos micro-organismos, foi adotado o método de diluição seriada decimal seguida de plaqueamento em meio de cultivo microbiano seletivo.

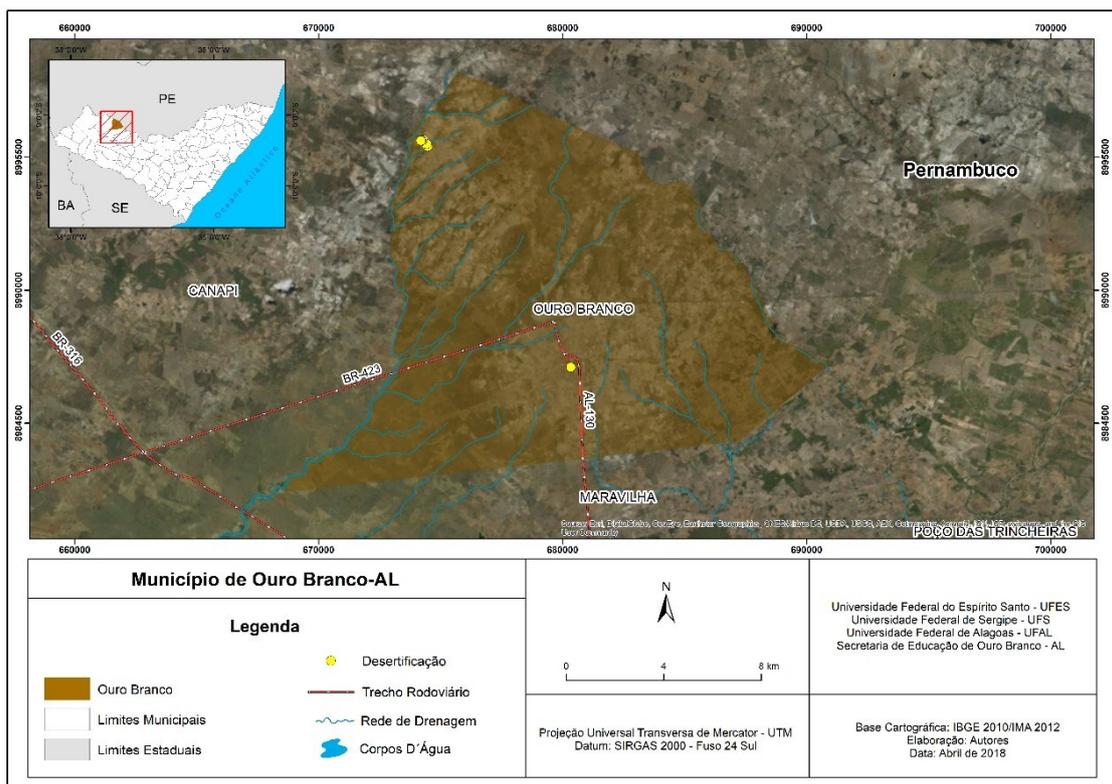


Figura 5. Identificação da área de estudo. Adaptado de Nascimento et al. (2018).

Os fungos foram isolados por meio de diluição seriada decimal (10^{-3}), com plaqueamento em meio de cultura de Martin e incubados por cinco dias para a realização da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC.g⁻¹) para estimativa da população fúngica associada à rizosfera de cactáceas e posterior repicagem e purificação dos isolados obtidos.

Para as análises químicas do solo foram utilizados os seguintes parâmetros: Extrator de Mehlich-1, Extrator de KCl 1,0 M, extrator de acetato de Ca a pH 7,0, método de Welkley-Black, Saturação por bases e saturação por alumínio. Os dados proporcionaram o comparativo entre atributos químicos e microbiológicos para modelagem das condições da área em processo de desertificação e salinização. A determinação dos elementos nos extratos foi realizada por colorimetria e fotometria de chama (SILVA et al., 2013).

Os dados microbiológicos foram submetidos à análise de variância por meio do software Sisvar (FERREIRA, 2014) e as médias agrupadas pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade.

2.2. Identificação morfológica dos isolados fúngicos

Para a extração de DNA, os isolados foram crescidas em meio de cultura Batata Dextrose (BD) e após cinco dias o micélio foi filtrado e lavado em água destilada esterilizada corrente e postos para secar em temperatura ambiente. Em seguida foi realizada a maceração de um fragmento da massa micelial em N líquido, e, posteriormente, realizada a extração pela adição de 1 ml do tampão CTAB (2%) e 2 μ L de β -mercapto-metanol 2%. O líquido obtido foi então transferido para microtubos de 2 mL e colocados em banho maria por 30 minutos a 65 °C, seguida da centrifugação por 13000 rpm por 5 minutos e 4 °C (DOYLE; DOYLE; HORTORIUM, 1987).

Os sobrenadantes foram transferidos para novos microtubos de 1,5 mL e adicionado igual volume de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1 v/v) ao sobrenadante recuperado, homogeneizados e centrifugados a 13.000 rpm por 10 min. Novamente os sobrenadantes foram transferidos para outros microtubos e adicionados volumes iguais de isopropanol gelado. O sistema foi mantido a -20 °C por 1h. Em seguida os microtubos foram centrifugados a 13.000 rpm por 10 min. O DNA precipitado foi lavado com etanol 70% e acrescentados 50 μ l de água Ultrapura. Após extração, foi realizada eletroforese para confirmação da existência de DNA.

A reação de PCR para amplificação da região ITS1 e ITS4 do rDNA foi realizada em volume total de 30 μ L, utilizando tampão da Taq DNA polimerase 1X, 1,5 mM de MgCl₂; 0,4 μ M de cada primer ITS1 (5' – TCCGTAGGTGAACCTGCGG–3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), 0,2 mM de dNTPs, e 0,2 U de Taq DNA polimerase e 25ng de DNA.

As PCR foram realizadas em termociclador Applied Biosystems (2720 Thermal Cycler) nas seguintes condições: para a região ITS, a desnaturação inicial foi de 95 °C por 2 min, seguidos por 38 ciclos de desnaturação a 95 °C por 1 min, anelamento a 55 °C por 30s, extensão a 72 °C por 45s e uma extensão final a 72 °C por 10 min. Os produtos da PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,0% com Tris Borato EDTA 1X, corado com brometo de etídio (5 mg. ML⁻¹) e visualizado em transiluminador UV.

Após amplificação, os produtos foram encaminhados à Magrogen® (<https://dna.macrogen.com/>) para realização do sequenciamento, o qual foi realizado pela técnica de Sanger. Os cromatogramas obtidos dos produtos da PCR das sequências foram visualizados, analisados e editados por meio dos softwares Staden Package (para obtenção

da sequência de consenso) e alinhadas utilizando a ferramenta MUSCLE (EDGAR, 2004), implementado pelo programa MEGA v.6 (TAMURA et al., 2013; KUMAR et al., 2018). As sequências oriundas de estudos anteriores, disponíveis no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Tabela 2) foram recuperadas e contrastadas pela ferramenta BLASTn e incluídas nas análises para comparação de similaridade, onde foram adotadas aquelas que apresentaram proximidade >99%. Como *outgroup* foi adotado o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*.

Tabela 2. Isolados recuperados do GenBank para análise filogenética pela região ITS do rDNA.

Isolado	Espécie	Local	Código de acesso GenBank
F02	<i>Penicillium</i> sp.	Brasil	OK210351
F04	<i>Aspergillus</i> sp.	Brasil	OK210353
F05	<i>Coprinellus radians</i>	Brasil	OK210350
F07	<i>Aspergillus</i> sp.	Brasil	OK210342
F08	<i>Neurospora</i> sp.	Brasil	OK178929
F09	<i>Coprinellus radians</i>	Brasil	OK178928
F10	<i>Aspergillus</i> sp.	Brasil	OK210345
F11	<i>Penicillium</i> sp.	Brasil	OK210326
F14	<i>Paecilomyces</i> sp.	Brasil	OK210352
F15	<i>Penicillium</i> sp.	Brasil	OK210344
F17	<i>Paecilomyces</i> sp.	Brasil	OK210347
HURB 18573	<i>Penicillium</i> sp.	Brasil	NR172038
974-SAB SP2 2	<i>Penicillium</i> sp.	Brasil	MT820349
439010	<i>Penicillium</i> sp.	USA	MW313849.1
BFM-L104	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	China	AB369489
YCG1(1)	<i>Aspergillus</i> sp.	China	KM268709
UFMGCB10058	<i>Coprinellus radians</i>	Brasil	KU954342
HCH-13	<i>Coprinellus</i> sp.	México	MK307658
PanB1A	<i>Coprinellus radians</i>	Panamá	JQ922136
URM7046	<i>Aspergillus niveus</i>	Brasil	KM613137
CGMCC_3.03920	<i>Aspergillus allahabadii</i>	China	MH292843
MS-Deb-PCB	<i>Aspergillus allahabadii</i>	Índia	MN339985
isolate 80	<i>Neurospora</i> sp.	África do Sul	KY587330
isolate PG2	<i>Neurospora</i> sp.	África do Sul	KY606539
B65-ITS1_K18	<i>Coprinellus radians</i>	Arábia Saudita	MN753979
SZ211	<i>Aspergillus versicolor</i>	China	MH509421
MEFC092	<i>Aspergillus</i> sp.	China	MK732127
3-F9	<i>Aspergillus versicolor</i>	China	MW081327
RCZ2D-2	<i>Penicillium daleae</i>	Nigéria	MW260092
KP1	<i>Penicillium</i> sp.	Índia	JQ387731
M1861	<i>Paecilomyces formosus</i>	USA	KC157764
Yu2-2	<i>Paecilomyces</i> sp.	China	MG827159
2723	<i>Paecilomyces sinensis</i>	Colômbia	EU272527
RHi	<i>Penicillium janthinellum</i>	Malásia	KM246752
DTO 249-D2	<i>Penicillium raperi</i>	Países Baixos	KC797647
XI19	<i>Penicillium</i> sp.	China	KX008645
KVL 96-31**	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Grécia	AF363470.1

A construção da árvore filogenética deu-se mediante adoção do método *Neighbor-Joining*, o qual consiste em encontrar pares de unidades taxonômicas operacionais visando minimizar o comprimento total do ramo em cada estágio de agrupamento filogenético (SAITOU; NEI, 1987). Em adição, as características morfológicas foram confrontadas para confirmar as inferências relacionadas às espécies, conforme chaves de identificação morfológica de acordo com Luz e Inácio (2009). Para tanto, os isolados foram submetidos ao método de microcultura, seguido de microscopia óptica. O método consistiu no crescimento dos isolados sobre lâminas estéreis contendo uma alíquota de meio de cultivo ágar-água e sobrepostas com lamínula também estéril, seguida da incubação por cinco dias e posterior avaliação das estruturas fúngicas em microscópio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da técnica de isolamento por plaqueamento em meio de cultura seletivo (meio de Martin) foi possível obter a estimativa da população microbiana dos dois pontos de coleta de solo. Assim, foi obtida população fúngica de $8,6 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ para o primeiro ponto de coleta (Ponto A), o qual possui um poço desativado devido ao avançado processo de salinização. No segundo ponto de coleta foi obtida população de $9,4 \times 10^3$ UFC.g⁻¹, o qual corresponde a uma área agrícola abandonada, onde havia há anos cultivo de milho, mas sem sucesso de produção, existindo atualmente populações de *O. cochenillifera* e outras espécies de cactáceas crescendo espontaneamente. Os dados obtidos para as populações microbianas das duas áreas não diferiram estatisticamente pelo teste de Skott-Knott ($p \leq 0,05$).

Estudos têm demonstrado a riqueza de fungos associados às plantas de ambientes secos, estimulando a prospecção desses micro-organismos com vegetais típicos de habitats áridos e semiáridos (FREIRE et al., 2015). No presente estudo, foram obtidos 11 isolados morfológicamente distintos, sendo possível a identificação dos gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* e *Coprinellus*, fazendo-se necessária a identificação dos isolados obtidos por meio de técnicas moleculares para se confirmar as espécies. Esses gêneros também foram descritos por Freire et al. (2015) em espécies de cactáceas, entretanto vivendo como endófitos. Embora existam relatos de espécies microbianas em associação com as mais diversas espécies de cactáceas, os estudos prévios estão centralizados às interações endófitas (BEZERRA, 2013; FREIRE et al., 2015), ou seja,

ainda há necessidade de mais estudos quanto aos micro-organismos rizosféricos que vivem em associações com as cactáceas.

Os dados da comunidade microbiana rizosférica associada a cactáceas do Semiárido alagoano demonstram que estas acompanham de igual modo os impactos sofridos pelo solo, ou seja, os ambientes degradados, embora apresentem suas consideráveis populações microbianas (fungos filamentosos, bactérias comuns e actinomicetos), possuem declínio nessas comunidades, o que está relacionado com seus atributos químicos.

Assim, as análises de solo (Tabela 3) apresentaram valores de Na^+ elevados, observando Porcentagem de Sódio Trocável (PST) de 6,27 para o Ponto B (ligeiramente sódico) e 17,34 para o Ponto A (medianamente sódico), onde está localizado um poço desativado. Portanto, compreende-se que, embora em pontos relativamente próximos entre si, os atributos do solo apresentam diferenças, o que pode estar fundamentado no fato de que a perfuração do solo ocasiona elevação e liberação de sódio e outros sais que estavam em profundidade, tornando-os livres na camada arável, o que com o manejo agrícola inadequado, no tocante da eficiência de uso da água, proporcionou aceleração no processo de salinização do solo. Desse modo, é possível afirmar que o solo da região em estudo apresenta caráter salino sódico ($\text{PST} > 15$; $\text{pH} 5,2$).

Tabela 3. Atributos químicos do solo coletado em dois pontos no município de Ouro Branco, Alagoas.

Determinações	Ponto A	Ponto B
pH em água	5,2	5,8
Na (mg.dm ³)	10	5
P (mg.dm ³)	11	25
K (mg.dm ³)	58	75
Ca (cmol _c .dm ³)	1,32	1,32
Mg (cmol _c .dm ³)	0,72	0,97
Al (cmol _c .dm ³)	0	0,05
H + Al (cmol _c .dm ³)	3,39	2,43
CTC* efetiva (cmol _c .dm ³)	2,34	2,55
CTC total (cmol _c .dm ³)	5,73	4,93
MO** (g.Kg ⁻¹)	10,6	14,5
V*** (%)	40	51
m (%)	5	2
Sat. de Ca (%)	23,5	26,8
Sat. de Mg (%)	12,8	19,7
Sat. de K (%)	2,7	3,9
Sat. de Na (%)	0,7	0,4

*CTC: Capacidade de Troca Catiônica; **MO: Matéria Orgânica; ***V: Saturação por bases

Solos de regiões Semiáridas apresentam, por natureza, maiores teores de sódio, característica explicada em função da baixa presença de minerais primários, o que é ocasionado pelo baixo intemperismo. Ademais, a região também apresenta baixos teores de matéria orgânica (10,6 g.Kg⁻¹ para o Ponto A e 15,5 g.Kg⁻¹ para o Ponto B). Portanto, essa característica contribui para a baixa população microbiana, uma vez que baixo teor de matéria orgânica torna escassa a disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento celular e multiplicação de micro-organismos. Portanto, explica-se também o fato de se apresentar maior população de fungos filamentosos, pois estes possuem estruturas de resistência (esporos) o que confere maior capacidade quanto à sobrevivência em ambiente com ausência de água e matéria orgânica. Ademais, fungos filamentosos podem apresentar caráter simbiótico como micorrizas, com determinada afinidade à colonização do sistema radicular das plantas.

Para Six et al. (2004), existem cinco fatores principais responsáveis pela estabilização dos agregados do solo, sendo os micro-organismos o segundo grupo mais

característico. Assim, fungos saprófitas, micorrizas e bactérias constituem fatores relevantes para a agregação do solo (BRAIDA et al., 2011).

O estabelecimento de vida microbiana do solo em uma determinada área é influenciado, principalmente, por fatores físicos e químicos como temperatura, pH, luminosidade, salinidade, fontes de energia e substratos orgânicos (matéria orgânica), nutrientes e presença ou ausência de elementos tóxicos. Desse modo, os diferentes tipos de manejo exercidos em um solo podem interferir nesses fatores, alterando a população microbiana e sua atividade (ARAÚJO et al., 2016; SILVA et al., 2019).

Nesse aspecto, como demonstrado por Nascimento et al. (2018) a ação antrópica é um fator limitante quanto à caracterização das áreas, pois as práticas agrícolas inadequadas proporcionaram o crescimento exponencial do processo de desertificação, diminuindo a diversidade botânica e, conseqüentemente, a diversidade de outros organismos e micro-organismos edáficos. Na Figura 6 podem ser visualizados os danos causados pela ação antropogênica, resultando na redução da diversidade de vegetação, o que conseqüentemente contribui para baixa biodiversidade.

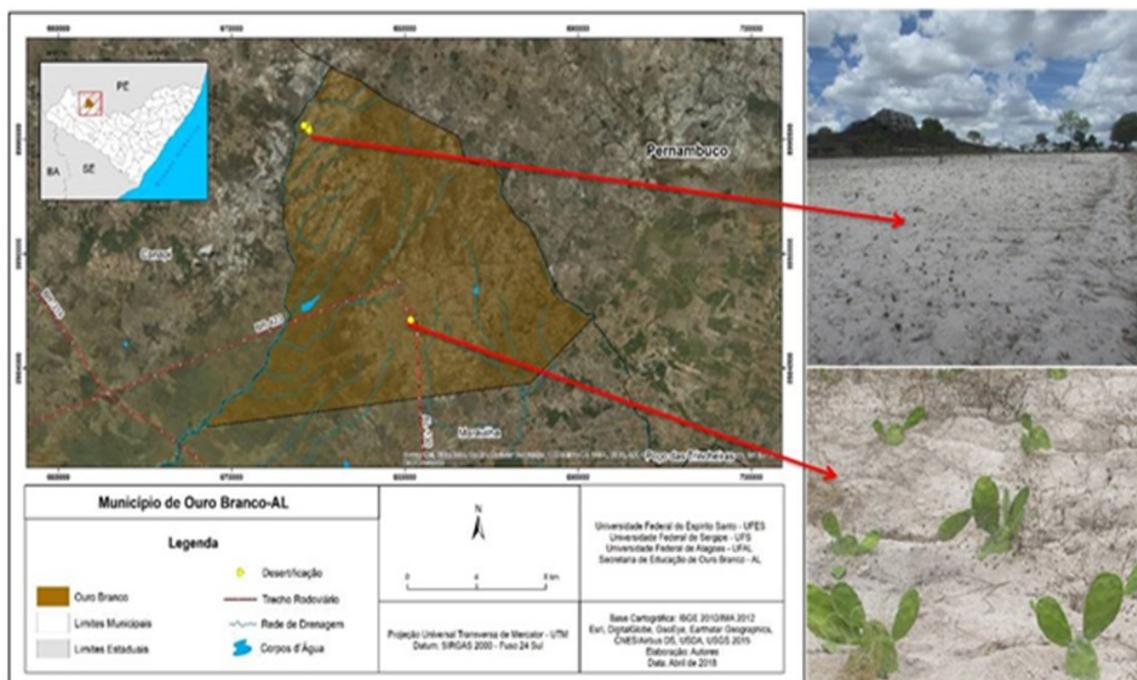


Figura 6. Identificação de pontos de desertificação no município de Ouro Branco – Alagoas. Adaptado de Nascimento et al. (2018).

Analisando a bibliografia já existente acerca da ocorrência de fungos rizosféricos associados às cactáceas, ainda é perceptível a deficiência de pesquisas nessa linha, sendo

poucas as publicações disponíveis. Assim, os trabalhos recentemente publicados abordam isolamento e identificação de espécies e gêneros fúngicos em associação com cactáceas provenientes da rizosfera ou de associações endófitas (BEZERRA, 2013).

Ainda assim, esses trabalhos relatam a associação fungo-cactácea em áreas propícias ao desenvolvimento desses micro-organismos, pois são estudos realizados em áreas conservadas ou em reservas ecológicas. Desse modo, é importante ressaltar a importância de estudos que visem à prospecção e caracterização da população e diversidade microbiana em ambientes áridos e semiáridos tendo em vista as necessidades crescentes do incremento da produção vegetal.

Outro ponto relevante é a necessidade de estímulo de ações nos programas de recuperação e conservação de áreas degradadas, sendo o conhecimento da diversidade microbiana um aspecto relevante, pois estes micro-organismos, possuem potencialidades biotecnológicas capazes de fomentar melhorias nesse aspecto. Ademais, em termos ecológicos, a interação entre plantas e micro-organismos concebe inúmeras vantagens para ambos, bem como para o ambiente, por meio da ciclagem de nutrientes e matéria orgânica, supressão de patógenos e pragas, entre outros.

Primers universais como aqueles utilizados no presente estudo são mais comumente aplicados na amplificação dessas regiões (WHITE et al., 1990). A similaridade aqui apresentada é proposta de acordo com o que mostram outros trabalhos, como exemplificado por Nilsson et al. (2008), onde os autores afirmam que 2% é uma margem aceitável para estudo da divergência intraespecífica por meio da região ITS. As espécies aqui apresentadas (Figura 7) têm sido descritas em estudos anteriores, sendo isolados dos ambientes mais distintos como, por exemplo, *Penicillium*, que tem sido descrito na literatura por promover o crescimento em plantas, seja por meio da produção e síntese de hormônios vegetais como as giberelinas ou por meio de mecanismos indiretos que atuam na nutrição da planta, como a solubilização de fosfato (ELSHARKAWY et al., 2017).

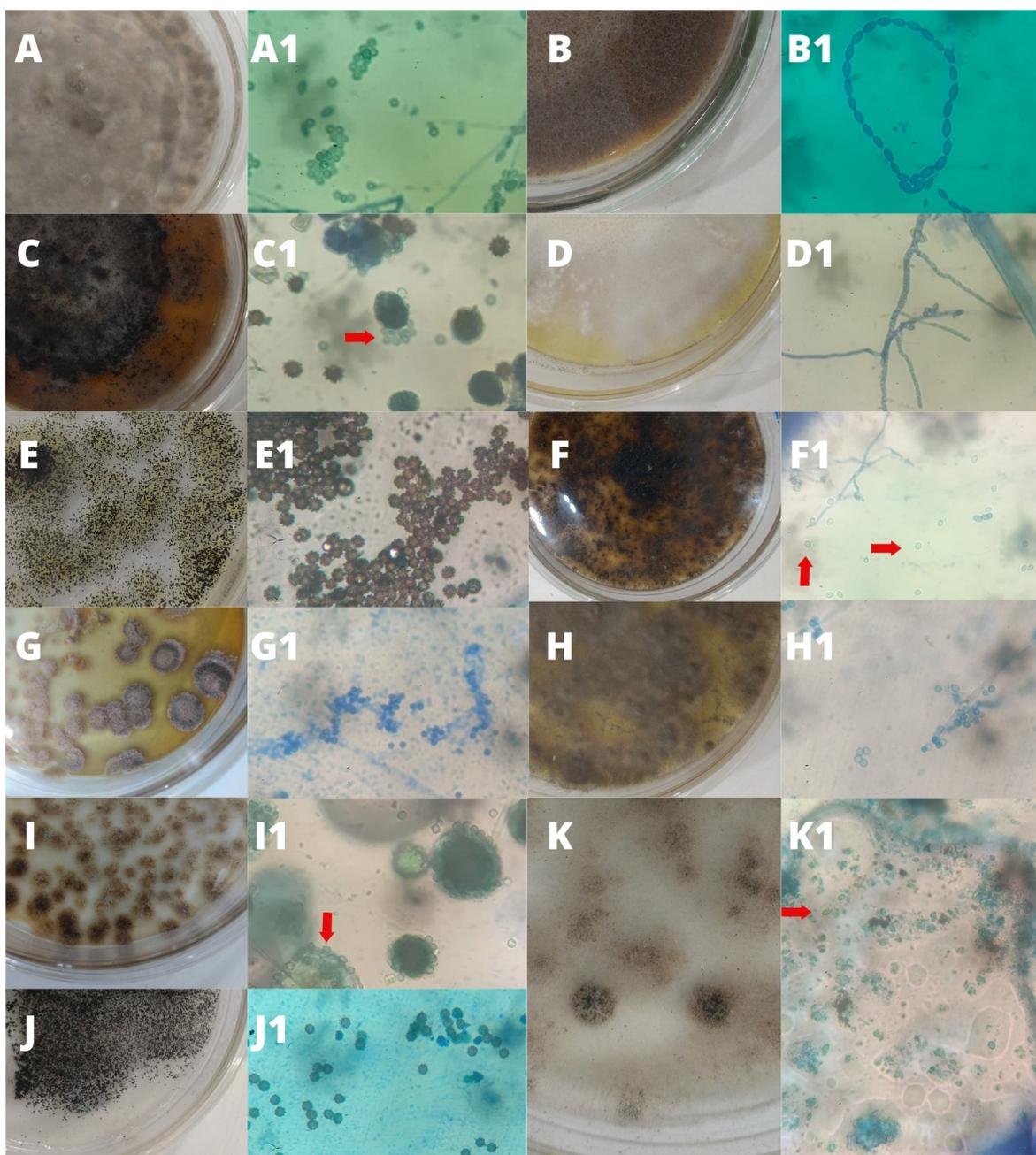


Figura 7. Morfologia de fungos isolados de rizosfera de cactáceas. A: F02, B: F04, C: F05, D: F07, E, F08, F: F09, G: F10, H: F11, I: F14, J: F15, H: F17; A1: F02, B1: F04, C1: F05, D1: F07, E1, F08, F1: F09, G1: F10, H1: F11, I1: F14, J1: F15, H1: F17. Setas vermelhas indicam esporos e/ou conídios.

Como base nos resultados obtidos, o gênero *Coprinus* (*Coprinellus*) (Agaricales: Psathyrellaceae) pode ser confirmado para os isolados F05 e F09 por meio da inferência filogenética (100%) (Figura 6) e morfologia, assim como comparado a estudos já publicados como Huang e Bau (2020), onde se pode verificar as similaridades morfogenéticas. Os isolados F02, F11 e F15 também apresentaram concordância entre morfologia e inferência filogenética, como apresentado por Paul et al. (2013) onde esse

fungo apresenta alterações na coloração do meio de cultura e a similaridade em suas estruturas reprodutivas, sendo agrupados nos ramos correspondentes à espécies do gênero *Penicillium* (Eurotiales: Trichocomaceae).

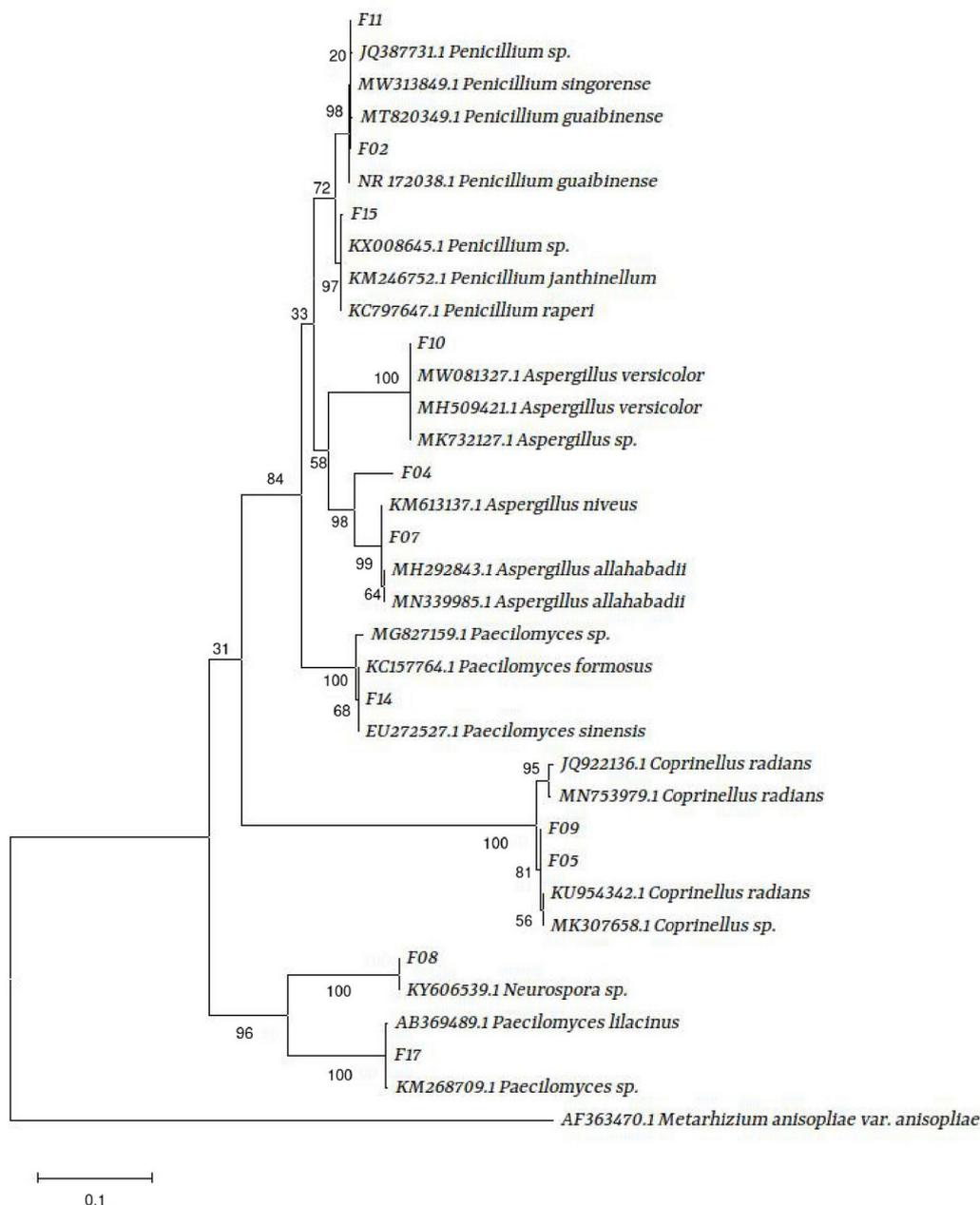


Figura 8. Árvore filogenética de máxima verossimilhança (1000 bootstraps) do sequenciamento do rDNA ITS (ITS 1 e ITS4) em relação a sequências depositadas no GenBank.

Coprinellus é compreendido como fungo coprinóide, dos quais atualmente estão distribuídos em quatro gêneros: *Coprinus* (Pers. 1797, *Coprinellus* P. Karst., *Coprinopsis* P. Karst. e *Parasola* Redhead, Vilgalys & Hopple). Esses fungos passaram por um processo

adaptativo, que se refere a um morfotipo que surgiu durante a evolução da ordem Agaricales, caracterizado pela deliquescência do himenóforo e do píleo como parte do processo de esporulação, acompanhado pela presença de pseudoparáfises e desenvolvimento do himênio (NAGY et al., 2011).

Os isolados F04, F10 e F07 apresentaram similaridade para o gênero *Aspergillus* (Eurotiales: Trichocomaceae), Esse gênero apresenta seus ascomas semelhantes a escleródios. *Penicillium* apresenta cleistotécio pequeno, não pedicelado (Figura 7). O gênero *Paecilomyces* possui, assim como os demais representantes da família conídios dispostos em filamentos ou dispersos, e coloração violácea a púrpura e aspecto flocoso e pulverulento (LUZ; INÁCIO, 2009).

Para os isolados F14 e F17, a correspondência filogenética compreendeu ao agrupamento ao gênero *Paecilomyces* (Sinonímia *Purpureocillium*) (Eurotiales: Trichocomaceae), sendo esse um gênero polifilético, assim como assinalam Luangsa et al. (2004), ocorrendo nas subclasses Sordariomycetidae e Eurotiomycetidae. Esse gênero tem sido descrito na literatura como importante agente de biocontrole, mais especificamente como nematófago atuando no manejo integrado de pragas, podendo ser um forte candidato na produção de bioinsumos para desenvolvimento agropecuário.

Os fungos agrupados como na classe taxonômica Eurotiomycetes (Eurotiales: Trichocomaceae), podem ser descritos pelas suas características como possuir cleistotécios superficiais, livres e arredondados. Seus conídios podem se apresentar de modo filamentosos ou ramificados em cadeias (LUZ; INÁCIO, 2009).

Moreno-Gavira et al. (2020) descrevem os mecanismos pelos quais espécies de *Paecilomyces* atuam como promotores de crescimento vegetal, sendo observada a capacidade de combater agentes fitopatogênicos como bactérias (*Xanthomonas campestris*), fungos (*Biscogniauxia*, *Phytophthora cinnamomi*, *P. variotii* e *Fusarium moniliforme*) e nematoides (*Rotylenchulus*, *Heterodera*, *Xiphinema*, *Pratylenchus* e *Meloidogyne*). Ainda segundo os autores, a atuação desses fungos pode ocorrer por meio do antagonismo direto (antibiose) ou por meio de indução de resistência sistêmica, provendo incremento nas características biométricas das plantas inoculadas com *P. lilacinus*.

Espécies pertencentes ao gênero *Penicillium* também têm sido descritas como indutores de resistência em plantas como demonstrado por Elsharkawy et al. (2017), que constataram que uma espécie de *Penicillium* possui habilidade de induzir resistência contra

Cucumber Mosaic Virus em plantas de tabaco. Hossain et al. (2014) constataram que *Penicillium* spp. promove crescimento vegetal em plantas de pepino e proteção contra *Damping-off* causado por *Rhizoctonia solani* e antracnose causada por *Colletotrichum orbiculare* em plantas de pepino inoculadas com *Penicillium* spp.. Ademais, os isolados referênciados aqui apresentaram alta variabilidade em função do ambiente do qual foram isolados, o que demonstra que as espécies possuem alta adaptabilidade.

O isolado F08 correspondeu ao gênero *Neurospora* (Saccharomycetes: Sordariales). Esse fungo ascomiceto filamentosos é um importante eucarioto, sendo compreendido como organismo modelo em estudos biológicos em várias áreas como saúde e biotecnologia. Conforme estudos realizados por Gladieux et al. (2020), espécies de *Neurospora* atuam como base genética para estudos em Eucariotos. Macabeo et al. (2020) afirmam que compostos de interesse farmacêutico e industrial foram isolados de espécies do gênero *Neurospora* e apresentam atividade contra fungos patógenos, sendo o primeiro relato descrevendo metabólitos de *N. dagawae*.

O gênero *Coprinus* (o qual abriga atualmente as espécies de *Coprinellus* spp.) por sua vez é compreendido dentro do filo Basidiomycota, e apresenta maiores potenciais para aplicação farmacêutica e industrial. Estudos anteriores têm demonstrado que espécies dentro desse gênero são capazes de produzir várias enzimas, como descrito por Pegin et al. (2019), onde os autores afirmam que *Coprinus* spp. possuem alto potencial de atividade inibitória da acetilcolinesterase.

Lim e Choi (2009) estudando *C. congregatus* afirmam que o fungo possui alta atividade enzimática da quitinase. Plantey et al. (2019) ao isolar fungos de solo e artrópodes do solo infectados encontraram também o gênero *Coprinus*, o que faz um paralelo com os autores anteriormente citados, uma vez que essa enzima é um indicador para o uso de fungos no controle biológico de insetos praga.

No Brasil, fungos coprinoides (*Coprinus* e *Coprinellus*) foram primeiramente registrados no Mato Grosso (PEGLER, 1990). Nos demais Estados, constam registros em Rondônia (CAPELARI; MAZIERO, 1988), São Paulo (PEGLER, 1997), Paraná (MEIJER, 2010), Mato Grosso do Sul (RICHARDSON, 2001), Minas Gerais (ROSA; CAPELARI, 2009) e Pernambuco (ALVES; CAVALCANTI, 1996). Os registros mais recentes correspondem aos estados da Paraíba (MAGNAGO et al., 2013; GOMES; WARTCHOW, 2014, 2018), Ceará (GOMES; WARTCHOW, 2018) e Pernambuco (MELO et al., 2016). Conforme dados publicados por Putzke e Putzke (2017), no Brasil são registradas 64

espécies. Com base nos dados, registra-se aqui a primeira ocorrência desses fungos no estado de Alagoas.

O gênero *Penicillium* abriga espécies de interesse agrícola como promotores de crescimento vegetal, assim como para a indústria farmacêutica por meio da sua diversidade em compostos voláteis. Hossain, Sultana e Hyakumachi (2017) descrevem em seus estudos o papel do fungo *P. viridicatum* na sinalização de etileno, atuando como promotor de crescimento vegetal e indutor de resistência sistêmica em plantas de *Arabidopsis*.

Esse gênero tem sido relatado, assim como descrito por Yadav et al. (2018) em diferentes habitats, incluindo ambientes extremos, em plantas, bem como em frutas e vegetais apodrecidos devido ao caráter saprofítico de algumas espécies do gênero. *Penicillium* isolado de ambientes extremos pode ser usado para entender os processos adaptativos que permitem a vida nesses tipos de ambientes no que trata seus processos evolutivos. A evidência de sua existência em diversos habitats tem consequências na exploração de aplicações biotecnológicas e industriais promissoras.

A pesquisa sobre a composição do microbioma da rizosfera está se tornando mais relevante na perspectiva de compreender as interações planta-micróbio com base nos serviços ecossistêmicos e na adaptação de plantas em ambientes de estresse em mudanças climáticas e cenário de segurança alimentar (ADL, 2016; AHKAMI et al., 2017). Esses micro-organismos desempenham um papel significativo na biogeografia vegetal, evolução e estrutura do ecossistema. As comunidades microbianas associadas ao hospedeiro influenciam a ecofisiologia no que diz respeito à nutrição, crescimento, resistência a estresses bióticos e abióticos e a sobrevivência e distribuição das espécies de plantas (REY; SCHORNACK, 2013; WANI et al., 2015), o que reforça a necessidade de intensificação de estudos voltados aos fungos rizosféricos associados às cactáceas, especialmente em ambientes em processo de degradação.

Em adição às ferramentas clássicas de isolamento e identificação de micro-organismos do solo, as técnicas moleculares como o sequenciamento da região ITS do rDNA é eficiente na identificação desses fungos, sendo possível inferir sobre sua diversidade e distribuição.

Essa região gênica tem sido descrita por cientistas no estudo de diversidade em fungos do solo. Beruti et al. (2017) afirmam que pelo uso da região ITS é possível estimar a estrutura da comunidade microbiana de fungos micorrízicos arbusculares em função de suas relações ambientais. Schoch et al. (2012) estudando regiões para identificação de

fungos habitantes do solo explanam que a região ITS mostrou maior sucesso na identificação desses fungos. Para Ritthenour et al. (2014) a região ITS proporcionou maior acurácia na identificação de fungos do filo Ascomycota.

Portanto, com base nos resultados e no apoio teórico da literatura anteriormente publicada (SCHOCH et al., 2012; RITTENOUR et al., 2014; BERUTTI et al., 2017) é possível afirmar que no semiárido nordestino, mais especificamente no estado de Alagoas, há diversidade micológica associada à rizosfera de cactáceas em área sob processo de desertificação e salinização.

CONCLUSÕES

As espécies encontradas nesse estudo (*Coprinellus* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Neurospora* spp. e *Aspergillus* spp.), conforme sequenciamento genético e comparação na literatura apresentam origem distintas, desde à associação com algas marinhas como endófitos em plantas cultivadas como coqueiro e cacaueteiro, o que demonstra alta plasticidade quanto à adaptação aos ambientes.

O sequenciamento da região ITS do rDNA de fungos filamentosos associados à rizosfera de cactáceas permite identificar espécies potenciais para aplicações biotecnológicas.

Registra-se aqui o primeiro relato do fungo Basidiomiceto *Coprinellus* spp. no estado de Alagoas, Nordeste do Brasil.

REFERÊNCIAS

ADL, S. M.. Rhizosphere, food security, and climate change: A critical role for plant-soil research. **Rhizosphere**, v. 1, p. 1-3, 2016.

ALVES, M. H.; CAVALCANTI, M. A. Q. Coprinaceae en el campus de la Universidad Federal de Pernambuco (Recife, PE, Brasil). *Boletín Micológico*, v. 11, n. 1-2, p. 33-40, 1996.

ARAÚJO, K. D.; SOUZA, M. A.; SANTOS, G. R.; ANDRADE, A. P.; FERREIRA NETO, J. V. Atividade Microbiana no Solo em Diferentes Ambientes da Região Semiárida de Alagoas. **Geografia (Londrina)**, v. 25, n. 2, p. 05-18, 2016.

BARROS, V. D. C.; LIRA JUNIOR, M. A.; SANTOS, M. V. F.; COSTA, A. F.; ARRUDA, A. M.; SOAUSA, C. A. Diversidade rizobiana em função de solo e clima no

semiárido pernambucano. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 24, n. 1, p. 1-6, 2019.

BEZERRA, J. D. P. **Diversidade de fungos endofíticos de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC., Cactaceae) em áreas sucessionais de Caatinga**. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos), Universidade Federal de Pernambuco – Recife, 2013.

BI, Y.; ZHANG, Y.; ZOU, H. Plant growth and their root development after inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi in coal mine subsided areas. **International Journal of Coal Science & Technology**, v. 5, n. 1, p. 47-53, 2018.

BRAIDA, J. A.; BAYER, C.; ALBUQUERQUE, J. A.; REICHERT, J. M. **Matéria orgânica e seu efeito na física do solo**. In: KLAUBERG FILHO, O.; MAFRA, A. L.; GATIBONI, L. C. (Orgs.) Tópicos em Ciência do Solo – Volume VII. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2011, pp. 221-278.

CAPELARI, M.; MAZIERO, R. Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos Rios Jaru e Ji-Paraná. **Hoehnea**, v. 15, p. 28-36, 1988.

ELSHARKAWY, M. M.; ABASS, J. M.; KAMEL, S. M.; HYAKUMASHI, M. The plant growth promotin fungi *Penicillium* sp. GP16-2 enhance the growth and confers protection against Cucumber mosaic vírus in tobacco. **Journal of Virological Sciences**, v. 1, p. 145-154, 2017.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L.; HORTORIUM, L.H.B. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1987.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FREIRE, K. T. L. S.; ARAÚJO, G. R.; BEZERRA, J. D. P.; BARBOSA, R. N.; SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTA, C. M. Fungos endofíticos de *Opuntia Ficus-indica* (L.) Mill.(Cactaceae) s;adia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (COCKERELL, 1896) (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE). **Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, 2015.

FUNGARO, M. H. P. **PCR na micologia**. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, v. 14, p. 12-16, 2000.

GLADIEUX, P.; BELLIS, F.; HANN-SODEN, C.; SVEDBERG, J.; JOHANNESSON, H.; TAYLOR, J. W. **Neurospora from Natural Populations: Population Genomics Insights into the Life History of a Model Microbial Eukaryote**. In: DUTHEIL, J. Y. (ed.) Statistical population genomics, 2020. pp. 313-336.

GOMES, A. R. P.; WARTCHOW, F. *Coprinellus arenicola*, a new species from Paraíba, Brazil. **SYDOWIA**, v. 66, n. 2, p. 249-256, 2014.

GOMES, A. R. P.; WARTCHOW, F. Notes on two coprinoid fungi (Basidiomycota, Agaricales) from the Brazilian semiarid region. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 75, n. 3, p. 1-11, 2018.

HOSSAIN, M.; SULTANA, F.; HYAKUMACHI, M. Role of ethylene signalling in growth and systemic resistance induction by the plant growth-promoting fungus *Penicillium viridicatum* in Arabidopsis. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 7-8, p. 432-441, 2017.

HOSSAIN, M.; SULTANA, F.; MIYAZAWA, M.; HYAKUMACHI, M. The Plant Growth-promoting Fungus *Penicillium* spp. GP15-1 Enhances Growth and Confers Protection against Damping-off and Anthracnose in the Cucumber. **Journal of Oleo Science**, v. 63, n. 4, p. 391-400, 2014.

HUANG, M.; BAU, T. New findings of *Coprinellus* species (Psathyrellaceae, Agaricales) in China. **Phytotaxa**, v. 374, n. 1, 2020.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, 2018.

LEE, S. B.; TAYLOR, J. W. Phylogeny of five fungus-like protist Phytophthora species, inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. **Molecular Biology and Evolution**, v. 9, n. 2, p. 683-653, 1997.

LIM, H.; CHOI, H. T. Enhanced expression of chitinase during the autolysis of mushrooms in *Coprinellus congregatus*. **The Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 225-228, 2009.

LUZ, W. C.; INÁCIO, C. A. **Micologia Avançada**. Volume IIA: taxonomia de ascomicetos. Revisão Anual de Patologia de Plantas: São Paulo, 2009.

MACABEO, A. P. G.; CRUZ, A. J. C.; NARMANI, A.; ARZANLOU, M.; BABAI-AHARI, A.; PILAPIL, L. A. E.; GARCIA, K. Y. M.; STADLER, M. Tetrasubstituted α -pyrone derivatives from the endophytic fungus, *Neurospora udagawae*. **Phytochemistry Letters**, v. 35, p. 147-151, 2020.

MAMEDE, T. F. de C. **Utilização de frutos de cactáceas como uma alternativa para a população do semiárido brasileiro**. 2017. 48fl. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Bacharelado em Nutrição, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil, 2017.

MAGNAGO, A. C., et al. **Guide to the Common Fungi of the Semiarid Region of Brazil**. TECC Editora: Florianópolis, 2013. pp. 23-49.

- MEIJER, A. A. R. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná: corrections and updating. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, v. 72, 1-9, 2010.
- MELO, R. F. R. et al. *Coprophilous Agaricales* (Agaricomycetes, Basidiomycota) from Brazil. **Phytotaxa**, v. 266, n. 1, p. 1-14, 2016.
- MORENO-GAVÍRA, A.; HUERTAS, V.; DIÁNEZ, F.; SÁNCHEZ-MONTESINOS, B.; SANTOS, M. *Paecilomyces* and Its Importance in the Biological Control of Agricultural Pests and Diseases. **Plants**, v. 9, p. 1746, 2020.
- NAGY, L. G.; WALTHER, G.; HÁZI, J.; VÁGVÖLGYI, C.; PAPP, T. Understanding the Evolutionary Processes of Fungal Fruiting Bodies: Correlated Evolution and Divergence Times in the Psathyrellaceae. **Systematic Biology**, v. 60, n. 3, p. 303-317, 2011.
- NASCIMENTO, S. P. G.; SILVA, J. M.; SANTOS, E. O.; SILVA, P. V. M.; SANTOS, J. R. U.; SANTOS, T. M. C. Impactos ambientais da produção vegetal no processo de desertificação do Semiárido alagoano: o caso de Ouro Branco – AL. **Ciência Agrícola**, v. 16, Supl., p. 31-35, 2018.
- NILSSON, R. H. KRISTIANSSON, E.; RYBERG, M.; HALLENBERG, N.; LARSSON, K. H. Intraespecific ITS variability in the kingdom fungi as expressed in the internal sequence databases and its implications for molecular species identification. **Evolutionary Bioinformatics**, v. 4, p. 193-201, 2008.
- PAUL, N. C.; DENG, J. X.; LEE, J. H.; YU, S. H. New Records of Endophytic *Paecilomyces inflatus* and *Bionectria ochroleuca* from Chili Pepper Plants in Korea. **Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 18-24, 2013.
- PEGLER, D. N. Agaricales of Brazil Described by J. P. F. C. Montague. **Kew Bulletin**, v. 45, n. 1, p. 161-177, 1990.
- PEGLER, D. N. **The Agarics of São Paulo, Brazil**. Royal Botanical Gardens: Kew, 1997. 70p.
- PEJIN, B.; TESANOVIC, K.; JAKOVLJEVIC, D.; KAISAREVIC, S.; SIBUL, F.; RASETA, M.; KARAMAN, M. The polysaccharide extracts from the fungi *Coprinus comatus* and *Coprinellus truncorum* do exhibit AchE inhibitory activity. **Natural Product Research**, v. 33, n. 5, p. 750-754, 2019.
- PLANTAY, R. L.; PAPURA, D.; COUTURE, C.; THIÉRY, D.; PIZZUOLO, P. H.; BERTOLDI, M. V.; LUCERO, G. S. Characterization of entomopathogenic fungi from vineyards in Argentina with potential as biological control agents against the European grapevine moth *Lobesia botrana*. **BioControl**, v. 64, p. 501–511, 2019.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Cogumelos (Fungos Agaricalesl.s.) no Brasil. Jair Putzke, e-book, 2017.

REY, T.; SCHORNACK, S. Interactions of beneficial and detrimental root-colonizing filamentous microbes with plant hosts. **Genome Biology**, v. 14, p. 121, 2013.

RICHARDSON, M. J. Coprophilous fungi from Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 44, n. 3, p. 283-289, 2001.

SILVA, J. M.; CRISTO, C. C. N.; MONTALTO, Y. C.; SILVA, C. S.; SENA, E. O. A.; VIGODERIS, R. B.; BARROSO, G.; BRITO NETO, J. S.; OLIVEIRA, J. U. L.; SANTOS, T. M. C. Atividade e população microbiana de um podzólico vermelho amarelo sob sistemas de cultivo orgânico e convencional de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 340-346, 2019.

SILVA, J. M.; NASCIMENTO, S. P. G.; MASSAHUD, R. T. R.; SANTOS, T. M. C.; LIMA, G. S. A. **Atributos químicos e biológicos do solo**: Um estudo no Semiárido Alagoano. In: GOMES, I. A.; MEDEIROS, M. B.; BATISTA, M. C.; GONZAGA, K. S.; FELIX, R. J. S.; SILVA JUNIOR, J. M.; SANTOS, J. P. O. Ensaio interdisciplinares em ciências agrárias no Nordeste do Brasil, Ananindeua: Itacaiúnas, 2019. pp. 42-80.

SILVA, J. M.; TEIXEIRA, R. R. O.; ROCHA, J. R.; SANTOS, T. M. C. *In vitro* and *in vivo* antagonism of *Screrotium rolfsii* Sacc by strains of *Trichoderma* spp.. **International Journal of Agriculture, Environment and Bioresearch**, v. 2, n. 1, p. 60-67, 2017.

SILVA, M. C. L.; CAVALCANTI, F. J. A.; SOUZA, A. R.; LUZ, M. F. S. Procedimentos para análise de fertilidade do solo. In: FIGUEIREDO, M. V. B. et al. (Orgs.) **Manual de práticas laboratoriais**: um guia para pesquisa. Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA: Recife, 2013. pp.369-382.

SIX, J.; BOSSUYT, E. T.; DEGRYZR, S.; DENEFF, K. A history of research on the link between (micro)agregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil & Tillage Research**, v. 79, p. 7-31, 2004.

WANI, Z. A.; ASHRAF, N.; MOHIUDDIN, T.; RIYAZ-UL-HASSAN, S. Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 2955-2965, 2015.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic**. In: INNIS, M. A.; GELFALD, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Org.). PCR Protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Pres, 1990, pp. 315-322.

YADAV, A. N.; VERMA, P.; KUMAR, V.; SANGWAN, P.; MISHRA, S.; PANJIAR, N.; SAXENA, A. K. **Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats**. In:

GUPTA, V. G.; RODRIGUEZ-COUTO, S. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, 2018. pp. 3-18.

CAPÍTULO III

SCREENING DE CARACTERES PROMOTORES E CRESCIMENTO VEGETAL POR FUNGOS RIZOSFÉRICOS ASSOCIADOS À CACTÁCEAS

RESUMO - O semiárido é um clima característico por baixa pluviosidade e erroneamente associado à baixa biodiversidade. As cactáceas, por sua vez, são conhecidas por serem plantas rústicas e resistentes às adversidades ambientais extremas no que se trata do referido clima. Os fungos são um grupo de micro-organismos que podem conviver em associação com as plantas e lhes conferir resistência por meio de diversos mecanismos. Desse modo, objetivou-se por meio desse estudo avaliar a capacidade de promoção de crescimento em plantas por fungos rizosféricos associados à cactáceas por meio de ensaios *in vitro*. Portanto, as isolados foram submetidas a ensaios de solubilização de fosfato, produção de ácido-3-indol acético (AIA), antagonismo contra fungos fitopatogênicos, desenvolvimento de plântulas de pepino e crescimento em meio de cultura com restrição hídrica. Todos os resultados dos ensaios foram submetidos à análises estatísticas e teste de médias ou regressão, quando melhor apropriado. Os isolados estudados foram capazes de solubilizar fosfato, sendo F04 e F05 os que apresentaram os maiores índices de solubilização. Quanto a produção de AIA, as isolados F02 e F07 foram as mais promissoras, com valores acima dos estipulados para conferir como altamente produtores, embora todas os isolados tenham produzido o hormônio, mesmo em menores níveis. Todas os isolados estudadas foram capazes de inibir o crescimento de *Colletotrichum* sp. e *Fusarium* sp., com taxas acima de 80% de inibição do crescimento micelial, atuando por mecanismos de confronto direto, sobreposição ou produção de metabólitos. O desenvolvimento das plântulas de pepino foi evidenciado para os isolados F07, F08, F09 e F10, como também para a emissão de radícula. A restrição hídrica proporcionou o crescimento micelial dos isolados, com decréscimo a partir da concentração de 10%. Portanto, essas características conferem a esses isolados características promotores de crescimento em plantas.

Palavras-chave: ácido-3-indol acético, fungos filamentosos, fosfato, restrição hídrica, antagonismo, *Fusarium*, *Colletotrichum*.

**SCREENING OF PLANT GROWTH PROMOTION CHARACTERS BY
RHIZOSPHERIC FUNGI ASSOCIATED TO CACTI**

ABSTRACT - The semi-arid climate is characteristic of low rainfall and erroneously associated with low biodiversity. Cacti, in turn, are known for being rustic plants and resistant to extreme environmental adversities in relation to the aforementioned climate. Fungi are a group of microorganisms that can live in association with plants and give them resistance through various mechanisms. Thus, the aim of this study was to evaluate the capacity of plant growth promotion by rhizospheric fungi associated with cacti by means of in vitro assays. Therefore, the strains were subjected to phosphate solubilization, 3-indol acetic acid (IAA) production, antagonism against phytopathogenic fungi, cucumber seedling development and growth in a water-restricted culture medium. All test results were subjected to statistical analysis and means or regression tests, when appropriate. The studied strains were able to solubilize phosphate, being F04 and F05 the ones with the highest solubilization indices. As for the production of IAA, isolates F02 and F07 were the most promising, with values above those stipulated to be highly productive, although all strains produced the hormone, even at lower levels. All strains studied were able to inhibit the growth of *Colletotrichum* sp. and *Fusarium* sp., with rates above 80% of inhibition of mycelial growth, acting by mechanisms of direct confrontation, overlapping or production of metabolites. The development of cucumber seedlings was evidenced for strains F07, F08, F09 and F10, as well as for radicle emission. The water restriction provided the mycelial growth of the strains, with a decrease from the concentration of 10%. Therefore, these characteristics give these isolates characteristics that promote growth in plants.

Keywords: 3-indol acetic acid, filamentous fungi, phosphate, water restriction, antagonism, *Fusarium*, *Colletotrichum*.

1. INTRODUÇÃO

Por suas condições naturais, o solo abriga uma diversidade de micro-organismos, os quais diferem entre si por meio de seus caracteres funcionais como a capacidade de prover crescimento vegetal por meio de produção e/ou síntese de hormônios e reguladores de crescimento vegetais (OLIVEIRA et al., 2012), controle biológico de pragas (SILVA et al., 2015; SIMI et al., 2018) e solubilização de fosfatos (VERA et al., 2002). Assim, por meio desses caracteres, fungos rizosféricos são capazes de promover o crescimento vegetal.

Nesse contexto, em vista às adversidades ambientais e as mudanças climáticas, trabalhos vêm sendo desenvolvidos com a finalidade de se prospectar a existência de fungos com aplicabilidades agropecuárias. Desse modo, Silva et al. (2019) descrevem que ambientes extremos como solo altamente halófilos e com ausência de disponibilidade hídrica abrigam fungos filamentosos em associação com as plantas, os quais podem ser aplicados em benefício às culturas agrícolas.

O P é um elemento limitante na agricultura, o que tem gerado uma grande discussão quanto a utilização de micro-organismos solubilizadores deste elemento. Assim, micro-organismos já têm sido descritos como solubilizadores de fosfato em estudos prévios (SILVA et al., 2015; SILVA et al., 2018). Este elemento, além de atuar diretamente na nutrição mineral das plantas cultivadas, participa dos processos metabólicos das mesmas, sendo, portanto, um elemento fundamental no desenvolvimento vegetal.

Fitormônios ou hormônios vegetais são compreendidas como substâncias químicas que em baixas concentrações promovem o crescimento das plantas, influenciando no seu crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular de tecidos (SPAEPEN et al., 2009). São moléculas sinalizadoras que regulam muitos processos de desenvolvimento das plantas (FITZE et al., 2005) são compostos orgânicos, os quais são produzidos naturalmente em alguma parte da planta e em algum momento da sua fenologia transportados para outra, o que finda em respostas fisiológicas específicas, e também há os que agem no próprio local onde são produzidos.

Por causa da capacidade de estimular ou inibir o crescimento de plantas, estes também são chamados de reguladores de crescimento de plantas. Cinco principais grupos de fitormônios são reconhecidos: auxinas, giberelinas, etileno, citocininas e ácido abscísico (SAHARAN; NEHRA, 2011). Esses fitohormônios ou fitorreguladores são fundamentais

também nos processos de colonização do sistema radicular para com os processos simbióticos.

A supressão de doenças por micro-organismos benéficos da rizosfera pode ocorrer por vários mecanismos de ação, como: antagonismo relacionado à produção de antibióticos antifúngicos, competição por espaço e nutrientes com fitopatógenos e outros micro-organismos prejudiciais à rizosfera e indução de resistência nas plantas (MOREIRA; ARAÚJO, 2013).

Considerando o biocontrole, são vários os mecanismos de ação utilizados por esses fungos, dentre os quais, destacam-se a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a competição por nutrientes (VERMA et al., 2007). Esses caracteres conferem a esses organismos lugar de destaque nas pesquisas relacionadas ao biocontrole de doenças de plantas causadas por fungos.

Diante do exposto, objetivou-se nesse esse capítulo avaliar a capacidade de fungos rizosféricos isolados de área de processo de desertificação para promoção de crescimento em plantas por meio da solubilização de fosfato, produção de ácido-3-indol acético, crescimento em meio sob restrição hídrica, antagonismo contra fitopatógenos e crescimento de plântulas de pepino.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA-UFAL) e no Laboratório de Solos do Instituto Federal de Educação de Alagoas, *Campus* Murici. Os isolados fúngicas rizosféricas utilizados estão devidamente depositados, identificados (Tabela 4) e conservados no laboratório de Microbiologia Agrícola do CECA-UFAL. Os mesmos foram isolados de rizosfera de cactáceas localizadas em área sob processo de desertificação na região Semiárida do estado de Alagoas.

Tabela 4. Identificação dos isolados fúngicos rizosféricos.

Isolado/Código	Espécie/Gênero	Acesso GenBank
F02	<i>Penicillium</i> sp.	OK210351
F04	<i>Aspergillus</i> sp.	OK210353
F05	<i>Coprinellus radians</i>	OK210350
F07	<i>Aspergillus</i> sp.	OK210342
F08	<i>Neurospora</i> sp.	OK178929
F09	<i>Coprinellus radians</i>	OK178928
F10	<i>Aspergillus</i> sp.	OK210345
F11	<i>Penicillium</i> sp.	OK210326
F14	<i>Paecilomyces</i> sp.	OK210352
F15	<i>Penicillium</i> sp.	OK210344
F17	<i>Paecilomyces</i> sp.	OK210347

2.1 Solubilização de fosfato

Os isolados foram crescidas previamente em meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) em placas de Petri por cinco dias. Posteriormente, um disco de micélio de aproximadamente 1 cm foi retirado da placa e inoculado em erlenmeyers contendo 100 ml de meio de cultura NBRIP (NAUTIYAL, 1999) e incubado por 15 dias em agitador orbital sob rotação contínua de 120 rpm à temperatura ambiente.

A cada cinco dias foi removido de cada erlenmeyers 1 ml do sobrenadante do meio de cultura, o qual foi acondicionado em microtubos e congelado (≈ 6 °C) para posteriores análises. Paralelamente foi aferido o pH das amostras nos mesmos intervalos de coleta.

Então, 1000 μL de cada amostra foi centrifugado a 10000 rpm por cinco minutos. Em seguida, 145 μL do sobrenadante da amostra foi transferido para novos microtubos, sendo acrescidos 570 μL de água destilada e 285 μL de molibdato-vanadato de amônio (5% molibdato, 0,25 vanadato de amônio (v/v)). As amostras foram reservadas por 10 minutos, procedendo-se a leitura da absorbância sob densidade óptica a 420 nm em espectrofotômetro (modelo SP-2000, Biospectro) (MALAVOLTA et al., 1997; SILVA, 1999). A concentração de P em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ foi determinada por meio da equação $y = (0,3041 \cdot X^2 + 0,2566 \cdot X + 0,0213) \cdot 100$, onde X corresponde aos valores de absorbância obtidos e interpreta-se os valores: baixa solubilização ($< 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$); média solubilização

(50-100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$); alta solubilização (101-500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) e elevada solubilização ($>501 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) (MALAVOLTA et al., 1997; SILVA, 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema de parcelas subdivididas no tempo, onde cada tratamento correspondeu a um isolado fúngico. O tratamento controle correspondeu ao Erlenmeyer contendo somente o meio de cultivo sem inóculo. Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de variância por meio do software Sisvar (FERREIRA, 2014) e as médias comparados pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$) e análise de regressão (R^2).

2.2 Produção quantitativa de ácido-3-indol acético (AIA)

Os isolados fúngicos rizosféricos foram crescidos previamente em meio de cultura BDA por cinco dias. Em seguida, discos com 5 mm de diâmetro contendo hifas e esporos foram transferidos para erlenmeyers com meio de cultura DYGS líquido (glicose 2,0g; peptona 1,5g; extrato de levedura 2,0g; $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g) (RODRIGUEZ NETO; MALAVOLTA JUNIOR; VICTOR, 1986), suplementado com 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de *L*-triptofano.

As culturas foram mantidas em agitação orbital constante (100 rpm), a 26 °C, por cinco dias. A produção de AIA foi avaliada por meio do método colorimétrico descrito por Gordon e Weber (1951). Uma alíquota de 1 ml de cada sobrenadante foi transferida para tubos de ensaio, ao qual foi adicionado 2 ml do reagente Salkowski. Os tubos foram mantidos no escuro, por 30 min (HARTMANN; SINGH; KLINGMULLER, 1983). A coloração rósea foi o indicativo da presença do fitormônio, sendo quantificada pela leitura em espectrofotômetro (modelo SP-2000, Biospectro) com densidade ótica de 530 nm de absorvância. A concentração do AIA no meio de cultura (y) foi determinada pela comparação com uma curva padrão, utilizando-se AIA comercial, por meio da equação $y = 34.507X^2 + 43.802X + 0.843$, onde X equivale aos valores de absorvância obtidos. Os isolados foram classificados de acordo com Hartmann et al. (1983) que estabelecem os seguintes parâmetros para produção de AIA: baixa produção ($<1\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$); média produção ($1-10\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$); alta produção ($11-50\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) e elevada produção ($>51\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados obtidos foram tabulados e agrupados em planilhas e submetidos à análise de variância (ANAVA) por meio do software Rstudio (2020) apoiando-se na linguagem R (R Team Core, 2013) e submetidos ao teste de Tukey ($p<0,05$).

2.3 Antagonismo contra *Fusarium* sp. e *Colletotrichum* sp.

Para o ensaio de antagonismo contra *Fusarium* sp. e *Colletotrichum* sp., previamente foram crescidos os isolados fúngicos rizosféricos e os fitopatógenos alvo em meio de cultura BDA por cinco dias em temperatura ambiente para obtenção de culturas jovens. Para a antibiose foi adotada a metodologia de cultura pareada, a qual consiste na deposição do fitopatógeno e do antagonista na mesma placa de Petri em polos opostos equidistantes, proporcionando o confronto direto entre o fungo rizosférico e o fitopatógeno.

Portanto, foi utilizado meio de cultura BDA e realizada inoculação para os dois fitopatógenos. O tratamento controle consistiu na inoculação apenas do fitopatógeno em um polo da placa. As placas foram incubadas por sete dias em temperatura ambiente. Após esse período foi realizada a avaliação que consistiu na mensuração do crescimento radial micelial do patógeno (cm). Os dados foram aplicados na fórmula: $ICM\% = [(\varnothing\text{placa} \times CMP) / \varnothing\text{placa}] \times 100$ (SILVA et al., 2019) onde,

ICM% - Porcentagem de inibição do crescimento micelial;

\varnothing placa - diâmetro da placa utilizada no experimento;

CMP - crescimento micelial do patógeno.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados obtidos foram tabulados e agrupados em planilhas e submetidos à análise de variância (ANAVA) por meio do software RStudio (2020) apoiando-se na linguagem R (R Team Core, 2013) e submetidos ao teste de Tukey ($p < 0,05$).

2.4 Crescimento sob restrição hídrica

Para avaliação do crescimento dos isolados fúngicas rizosféricas em meio halófilo foi utilizado meio de cultura BDA em placas de Petri de 90mm. Para proporcionar as diferentes concentrações de estresse salino, foi incorporado ao meio de cultura 5, 10, 15 e 20% de Manitol (v/v). O controle consistiu no meio de cultura sem adição do Manitol. As placas foram incubadas em temperatura ambiente e as avaliações realizadas aos sete dias após incubação. As mensurações foram realizadas nos referidos intervalos com auxílio de um paquímetro digital.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) por meio do software

RStudio (2020) apoiando-se na linguagem R (R Team Core, 2013) e submetidos à análise de regressão (R^2).

2.5 Crescimento de plântulas de pepino sob influência de extratos extracelulares de fungos rizosféricos

Para avaliação do crescimento *in vitro* de plântulas de pepino propõe-se aqui um método de estudo. Primeiramente foram obtidos os filtrados dos isolados. Assim, estes foram crescidas em 50 ml de meio de cultura Czapeck líquido em erlenmeyers de 125ml, onde foram incubadas em temperatura ambiente sob agitação orbital contínua (100 rpm) por 15 dias. Após o crescimento, as culturas foram filtradas em gaze, seguida de papel filtro quantitativo e os filtrados acondicionados em tubos estéreis. Subsequentemente, os filtrados foram centrifugados (13000 rpm) por cinco minutos em microtubos de 2 ml, sendo retirado após filtração 1 ml do sobrenadante e transferido para novo microtubo.

As sementes de pepino (variedade verde comprido), foram adquiridas em loja especializada com pureza e potencial germinativo de 99%, segundo informações do fabricante. Para o experimento, foi realizada a desinfecção superficial das sementes por meio da imersão em álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 0,1% (1 minuto) e tríplice lavagem com água destilada estéril. Após esse procedimento as sementes foram postas sobre papel filtro estéril para secagem em temperatura ambiente.

Posteriormente, as sementes foram fracionadas e imersas nos filtrados fúngicos por 30 minutos. Após esse tempo, as sementes foram secadas em papel filtro estéril e acondicionadas em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura Agar Água semissólido e incubadas em temperatura ambiente por oito dias e fotoperíodo de 12 horas. O tratamento controle consistiu nas sementes imersas apenas em água destilada estéril durante 30 minutos. Para cada filtrado, como também para o controle, foram utilizadas cinco sementes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) por meio do software RStudio (2020) apoiando-se na linguagem R (R Team Core, 2013) e submetidos ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Solubilização de fosfato

Todos os isolados estudados apresentaram crescimento micelial no meio de cultivo. Por meio da análise de variância, foram detectadas diferenças significativas entre os isolados estudados ($p \leq 0,05$) (Tabela 5), bem como resposta à regressão ($R^2 = 100\%$). Assim, os isolados F04 (*Aspergillus*), F05 e F09 (*Coprinellus radianus*) foram os mais promissores na solubilização de fosfato (Figura 9), com resultados superiores aos demais. Porém, não foram detectadas interações entre o tempo de incubação e a solubilização de fosfatos, considerando assim que essa característica é eminente de cada um dos isolados, as quais apresentam comportamentos distintos.

Tabela 5. Solubilização de P ($\mu\text{g/ml}$) em função do tempo de incubação.

Isolado	5 dias	10 dias	15 dias
	P solubilizado ($\mu\text{g/ml}$)*		
F02	43,32 bcA	11,1 aA	8,75 A
F04	299,99 fA	146,25 dB	140,84 dB
F05	269,39 gA	146,6 dA	141,16 dB
F07	5,4 aA	3,03 aA	3,36 aA
F08	2,87 aA	2,82 aA	2,95 aA
F09	79,75 eA	124,13 dB	126,94 dB
F10	3,39 aA	3,26 aA	6,05 a A
F11	3,36 aA	3,55 aA	2,66 aA
F14	13,96 abA	14,67 aA	3,1 aB
F15	10,26 aA	12,63 aA	10,54 aA
F17	11,42 abA	12,41 aA	10,03 aA
$R^2 = 100\%$	$y = 89,614556 - 8,955162x + 0,402156x^2$		

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas nas colunas. Letras maiúsculas nas linhas.

Nesse aspecto, o isolado F04 apresentou as maiores concentrações de P com 299,99 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ a partir do quinto dia de incubação, seguido pelo isolado F05 com concentração de 269,39 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Porém, a atividade da fosfatase, responsável pela solubilização de P, apresenta decréscimo para F04 ao décimo dia de incubação (146,25 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) (Figura 9). Para o isolado F05, a partir do décimo dia ocorre estabilização da solubilização de fosfato. O isolado F09 (*Coprinellus radianus*) apresenta pico de solubilização ao 15º dia de incubação, podendo ser considerado que a atividade fosfatase desse isolado seja constante e que necessite de mais tempo para obter maiores concentrações de solubilidade de P. As

características observadas em função dos valores de P solubilizados conferem aos isolados F04, F05 e F09 alta capacidade de solubilização de fosfato.

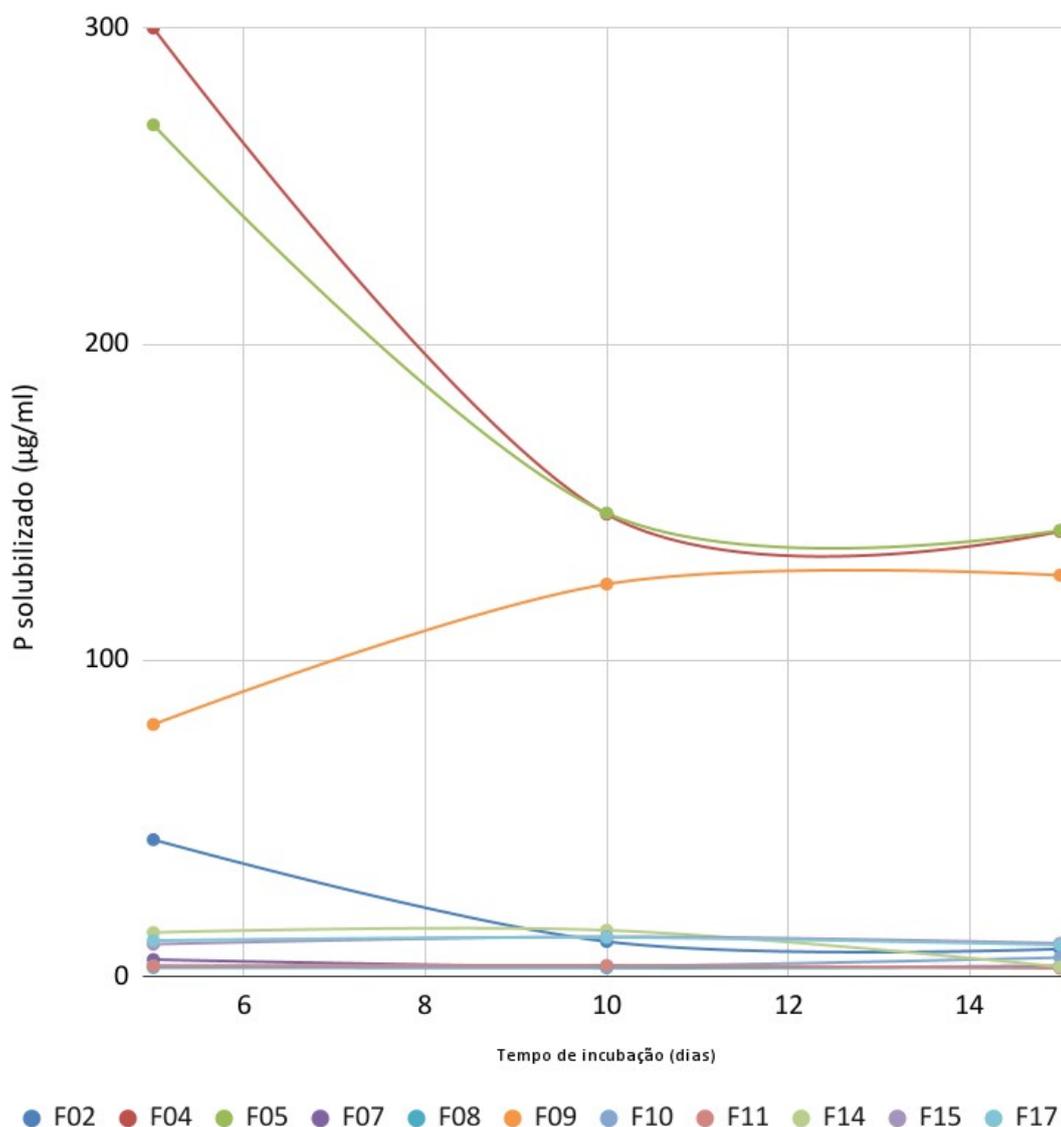


Figura 9. Solubilização de fosfato por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos associados à cactáceas. Fonte: Autor (2020).

Assim, todos os fungos estudados apresentaram capacidade de solubilização de fosfato em meio de cultura NBRIP. Resultados semelhantes já têm sido descritos na literatura, como demonstrado por Oliveira et al. (2012) ao estudar a solubilização de fosfato por diferentes isolados de *Trichoderma* sp., onde os autores afirmam que tais

fungos apresentaram crescimento micelial e variáveis valores de concentração de P utilizando o mesmo meio de cultivo.

Spagnoletti et al. (2016) demonstraram o potencial de solubilização de fosfato por fungos endofíticos *dark septate* na presença de cálcio, ferro e alumínio. Os autores encontraram em seus resultados que o P solubilizado máximo na presença do fosfato de cálcio apresentou variação de 42,87 a 51,33 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ seguido por P solubilizado em fosfato de alumínio variando de 5,56 a 20,14 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ e no caso de fosfato de ferro como fonte de P apresentou solubilização em torno de 0,80 a 10,59 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Com relação à quantidade de P solubilizado em função do tempo de incubação, Montaldo (2016) afirma que essa característica é uma das mais importantes quanto ao *screening* de micro-organismos para a produção de inoculantes, uma vez que confere constância na solubilização desse elemento. Ademais, a capacidade de solubilizar fosfatos está relacionada à produção de ácidos orgânicos, como relatado Zaidi et al. (2009).

Hao et al. (2020) estudando comunidades microbianas em associação com espécies do gênero *Penicillium* descrevem que as hifas desses fungos proporcionam recrutamento de comunidades bacterianas solubilizadoras de fosfatos no solo. Essa habilidade faz com que existam particularidades na ciclagem de P no solo. Ademais, essa associação relatada pelos autores fomenta a necessidade de aprofundamento nos estudos quanto a associação entre todas as comunidades solubilizadoras de fosfato, ou seja, estudar fungos e bactérias de modo associado.

Quanto ao pH observado ao longo do tempo de execução dos experimentos ($R^2 = 100\%$; $y = 6,2529 - 0,0722x + 0,000382x^2$), foi detectado que a maioria dos isolados estudadas apresenta estabilidade na acidificação do meio, especialmente os isolados F07 e F08 (Figura 10), embora apresentem moderada taxa de solubilização. Em adição, o isolado F09 apresentou o maior decréscimo nos valores de pH do meio ao longo do período experimental com valores de pH em 4. O menor valor de pH foi encontrado para o isolado F05 ao 15º dia de avaliação.

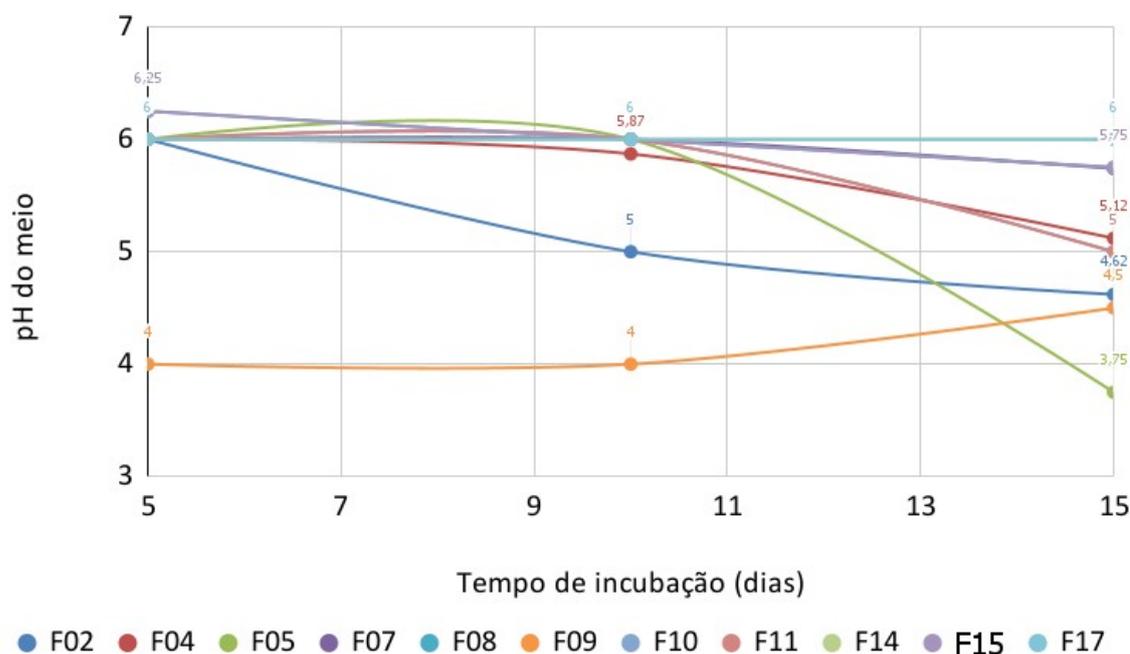


Figura 10. pH do meio de cultura em função do tempo de incubação.

De acordo com Oliveira et al. (2012) a solubilização de P continua a aumentar mesmo com o decréscimo do pH do meio, o que ocorre por conta da liberação de ácidos solúveis, os quais são responsáveis pela solubilização de P. Assim, sugere-se que a acidificação do meio não é uma regra no que concerne a solubilização de fosfato, o que torna uma característica desejável no que tange as relações solo-planta-ambiente-fungo.

Bakri (2019) em estudos com *A. niger* para solubilização de fosfato destaca que o processo de solubilização de P, mediante a fonte desse nutriente no meio proporciona a liberação de ácidos orgânicos. Esses, por sua vez, concede ao fungo a capacidade de adaptação aos ambientes que possuem estresse abióticos como, por exemplo, solos com alta acidificação. Essa característica torna ainda mais importante o estudo desses micro-organismos e suas interações com solo e planta.

De acordo com Rawat et al. (2020) a seleção de um micro-organismo solubilizante de fosfato potente com características multifuncionais de promoção do crescimento em plantas é de extrema importância para o desenvolvimento de biofertilizantes comerciais com vida útil mais longa. Desse modo, os dados aqui apresentados são de relevância biotecnológica como subsídio para desenvolvimento de bioprodutos para aplicação em culturas agrícolas.

3.2 Produção quantitativa de ácido-3-indol acético

As análises estatísticas ($p < 0,01$) mostraram que as maiores produções de AIA, caracterizadas pelas alterações colorimétricas do meio (Figura 11), foram observadas para os isolados F02 e F07 ($146,13 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ e $139,27 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, respectivamente), as quais são classificadas, de acordo com Hartman et al. (1984) como elevados produtores de AIA (Figura 12). Ainda de acordo com os mesmos autores, os demais isolados, embora com menores valores de AIA, classificam-se como altos produtores desse fitohormônio.

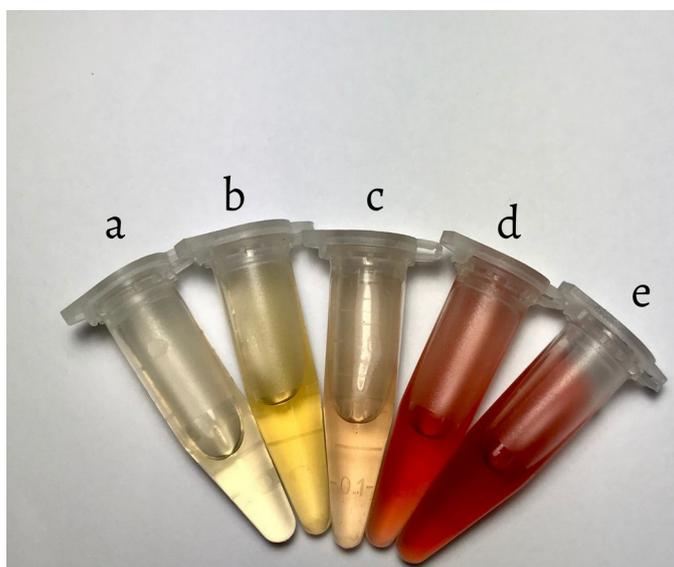


Figura 11. Reação colorimétrica indicadora da presença de produção de AIA. a) controle; b-e isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).

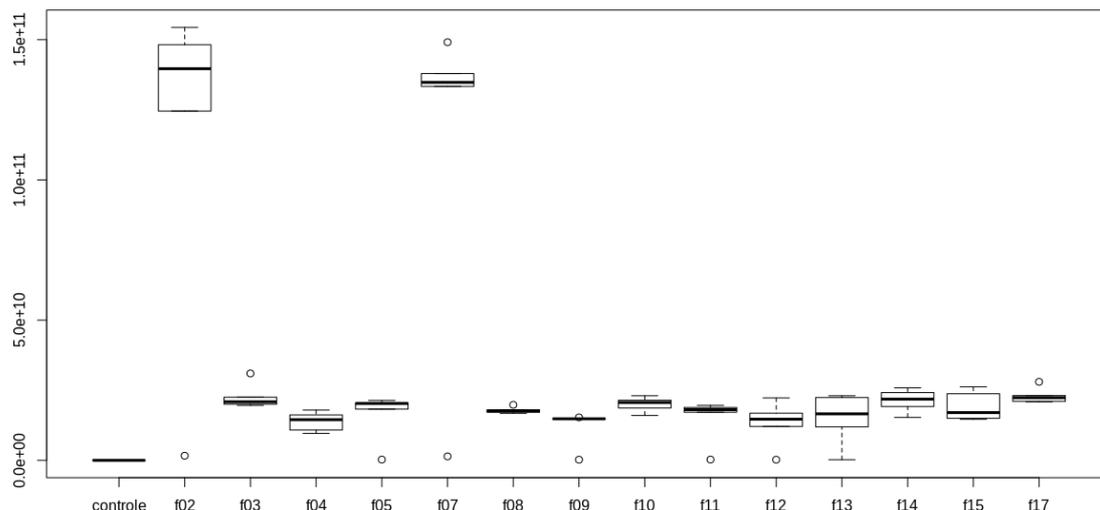


Figura 12. Produção de ácido-3-indol acético por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a f17 = isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).

De acordo com Spaepen et al. (2007) são inúmeros os fatores ambientais e químicos que podem modelar a taxa de produção/biossíntese do AIA por micro-organismos, incluindo pH, fonte de carbono e aeração. Ademais, é importante a prospecção de novos organismos promissores para o desenvolvimento de formulações inoculantes, especialmente com características que proporcionem atuar nos processos fisiológicos das plantas.

Munasinghe et al. (2017) discorrem que, estudando a biossíntese de AIA do fungo endofítico *Colletotrichum siamense*, detectaram propriedade antioxidante do AIA. Anda inferem que esse hormônio é considerado a principal auxina de plantas tendo como precursor o aminoácido triptofano controlando muitos processos fisiológicos importantes, incluindo aumento e divisão celular, diferenciação de tecidos e respostas à luz.

Fu et al. (2015) afirmam que o AIA atua na troca de sinais entre espécies distantemente posicionadas na árvore da vida, assim, de acordo com os autores, este fenômeno sugere a existência de uma estrutura amplamente desenvolvida em eucariontes e procariontes, permitindo a produção, transferência e percepção de sinais. Desse modo é possível afirmar a existência de coevolução entre as espécies microbianas produtoras de AIA e as espécies vegetais, havendo beneficiamento de ambas as partes.

Turaeva et al. (2020) dissertam que a produção de ácido indol acético por *A. niger* apresenta variações em suas concentrações ao longo dos dias e também em função da fonte de carbono, o que está relacionado aos seus processos metabólicos, uma vez que maior parte dos processos bioquímicos microbianos são relacionados ao seu metabolismo secundário.

Patel et al. (2021) investigando a associação entre *Penicillium* sp. em associação com plantas de feijão relatam que o fungo possui capacidades promotoras de crescimento, tais como produção de AIA, o qual também indica estar relacionado com a produção de sideróforos.

Lubna et al. (2018) assinalam que o fungo endofítico *A. niger* em estudos *in vitro* apresentam capacidades promotoras de crescimento, como a produção de AIA. Os autores afirmam que a interação desse fungo com as plantas estimula a produção de hormônios vegetais endógenos, bem como a ativação de metabólitos secundários. Desse modo, atribui-se uma interação benéfica com capacidade para indução de resistência sistêmica.

Desse modo, é importante frisar a importância do conhecimento acerca dos microorganismos benéficos que habitam a rizosfera das plantas cultivadas ou não, especialmente aquelas localizadas em ambientes mais extremos e degradados, como é o caso dos isolados fúngicas aqui estudadas. Esses conhecimentos fomentam subsídios para processos biotecnológicos para o desenvolvimento agrícola.

3.3 Antagonismo de *Fusarium* sp. e *Colletotrichum* sp.

Por meio das análises estatísticas ($p < 0,05$) foi possível detectar que os isolados fúngicas utilizadas apresentam potencial inibitório contra o crescimento micelial de *Fusarium* sp. e *Colletotrichum* sp. (Figuras 13 e 14, respectivamente). A maioria dos isolados apresentou inibição direta por meio de competição por espaço e nutrientes no meio de cultura, como também houve inibição por compostos voláteis, o que é explicado pela presença de inibição do crescimento micelial do fitopatógeno mesmo com crescimento lento do antagonista (Figuras 13 e 14, respectivamente).

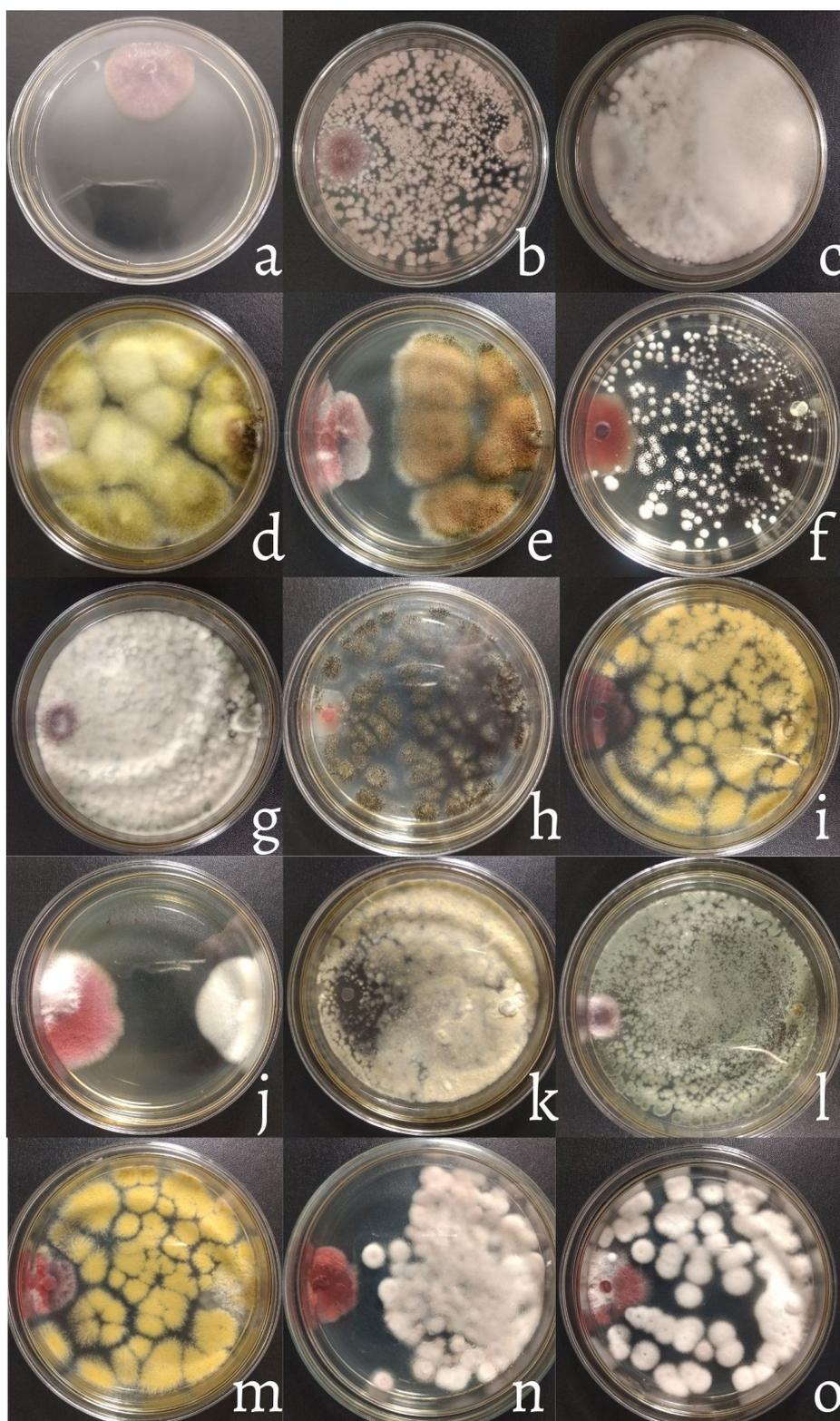


Figura 13. Antagonismo de *Fusarium* spp. por isolados de fungos rizosféricos. a: controle. b - o: isolados F02 a F17, respectivamente. Fonte: Autor (2020).

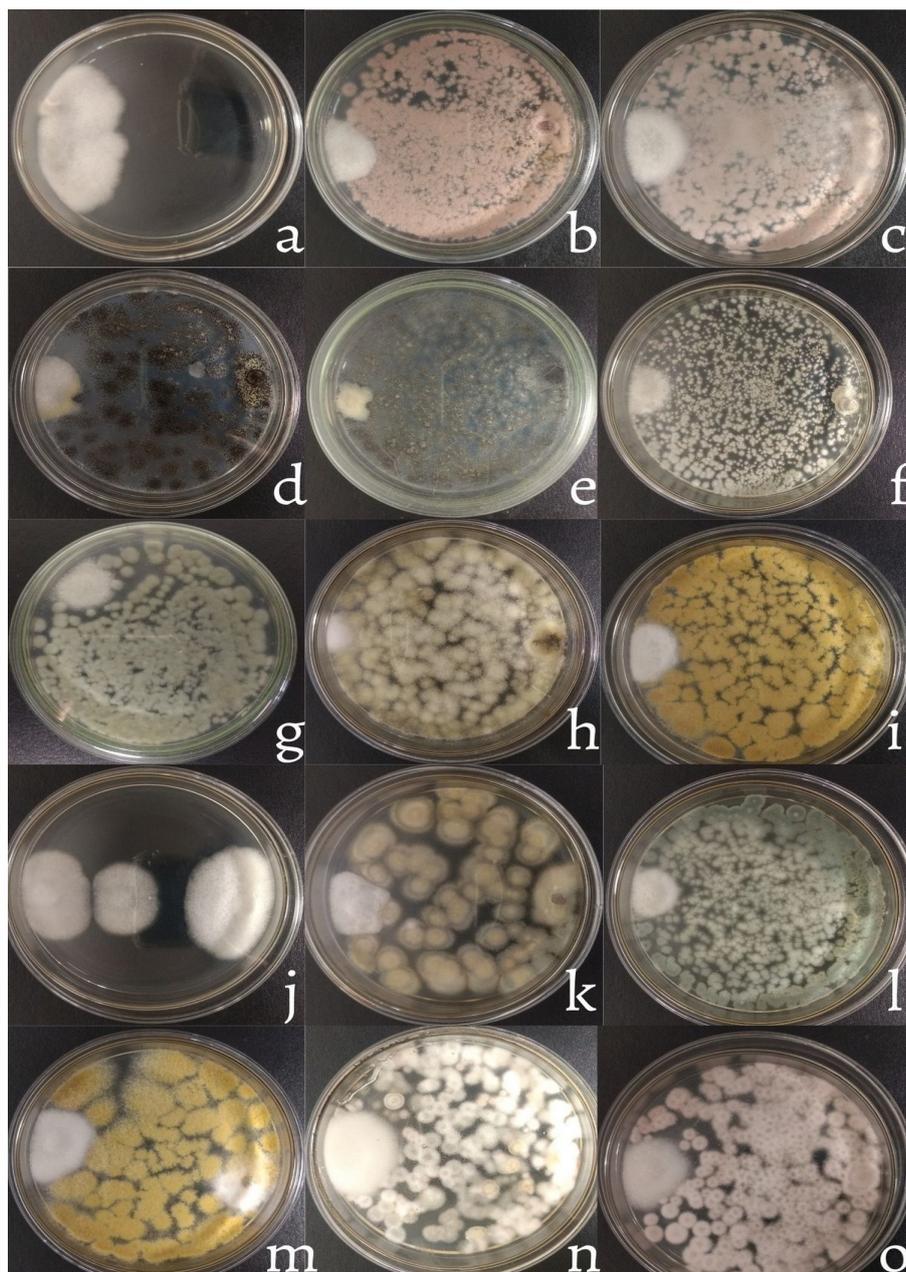


Figura 14: Antagonismo de *Colletotrichum* spp. por isolados de fungos rizosféricos. a: controle. b - o: isolados F02 a F17, respectivamente. Fonte: Autor (2020).

Quase todas os isolados estudadas apresentaram mais de 80% de capacidade inibitória do crescimento micelial de *Fusarium* sp. no ensaio realizado (Figura 13). Esses resultados podem estar relacionados taxa de crescimento micelial do antagonista, como também à capacidade de produção de metabólitos secundários inibitórios pelo fitopatógeno.

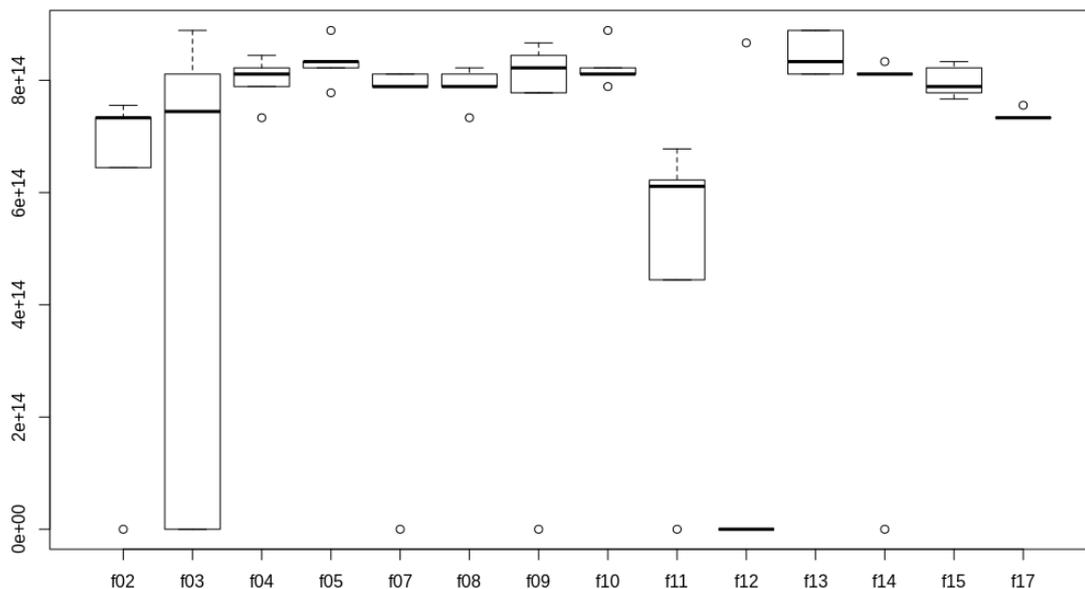


Figura 15. Antagonismo (%) de *Fusarium* sp. por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).

Nesse sentido Yuniati e Rollando (2018), estudando um isolado endofítico de *Fusarium*, detectaram a presença de compostos orgânicos voláteis com capacidade de inibir o crescimento micelial de bactérias fitopatogênicas. Ademais, é importante citar que esse gênero de fungo fitopatogênico apresenta uma forte pigmentação no meio de cultura, o que é um indicativo da produção de compostos voláteis e não voláteis, o que pode ocasionar em influenciar o crescimento micelial do candidato antagonista.

No que concerne aos ensaios realizados com *Colletotrichum* sp. apenas o isolado F08 não apresentou capacidade antagônica contra o fitopatógeno. Todos os demais isolados apresentaram potencial inibitório do crescimento micelial do fitopatógeno estudado com taxa variando de 75 a 82% de inibição (Figura 14). Do mesmo modo que contra *Fusarium* sp. os isolados F04 e F05 apresentaram sobreposição e micoparasitismo. O isolado F07 apresentou uma característica singular em comparação aos demais isolados, onde foi observado que este possui alta capacidade de dispersão dos esporos, o que contribuiu para alta performance na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp.

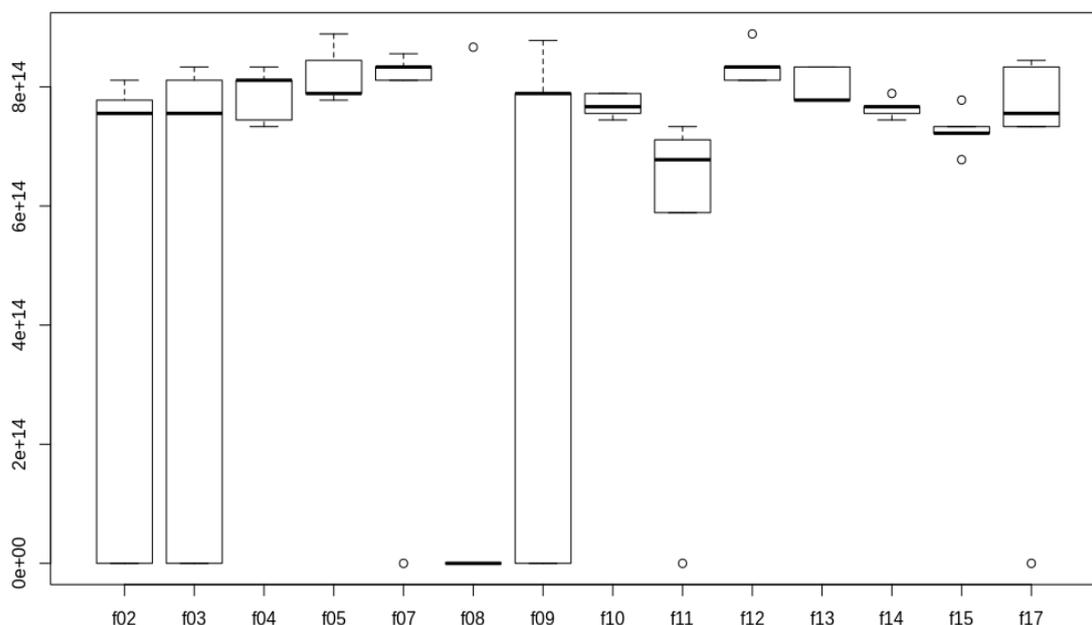


Figura 16: Antagonismo (%) de *Colletotrichum* spp. por fungos rizosféricos associados à cactáceas. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).

Silva et al. (2017) afirmam que a velocidade de crescimento micelial do antagonista é uma das principais características a se desejar quando de trata da seleção de isolados promissoras no antagonismo de fitopatógenos. Medeiros et al. (2020) estudando o antagonismo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* por *Trichoderma*, relatam a existência de parasitismo, sendo esta a capacidade que um fungo filamentosos tem de penetrar as hifas e micélio do fitopatógeno, comportamento também observado no presente estudo, especialmente os isolados F04 e F05, como também a sobreposição micelial.

Salienta-se que maior parte dos estudos relacionados a antibiose de fitopatógenos pelo uso de fungos antagonistas está direcionada ao gênero *Trichoderma*. Nesse sentido, é importante a aplicação de outras espécies como demonstrado por Brandão (2017), que detectou a capacidade antagonista do fungo *Paecilomyces lilacinus* no controle biológico de *Bipolaris orizae*. Wicklow e Wilson (1990), estudando a sobrevivência de escleródios de *Aspergillus flavus* no solo, observou as espécies de fungos que colonizavam aquelas estruturas, o que torna um indicativo da habilidade micoparasita.

A atividade antagônica exercida pelo mesmo fungo (isolado) sobre mais de um fitopatógeno de uma determinada cultura e, preferivelmente, em fitopatógenos de diversas

culturas é uma característica muito desejável para potenciais antagonistas, principalmente sob o aspecto de comercialização desses micro-organismos como produtos biológicos (SUÁREZ-ESTRELLA et al., 2013), tendo em vista a necessidade de desenvolvimento biotecnológico de bioformulações para controle biológico de pragas e doenças.

3.4 Crescimento micelial sob influência de estresse hídrico

Quanto à cinética micelial dos isolados estudadas submetidas a estresse hídrico foi possível observar que a maioria apresentou comportamento tolerante até a concentração de 10% de manitol ($p < 0,05$). Os isolados F04, F09, F14, F15 e F17 foram os mais tolerantes no estudo, onde apresentaram crescimento micelial em todas as concentrações estudadas.

A análise de regressão mostrou que o crescimento micelial de todas as isolados se ajustou ao modelo quadrático ($R^2 = 99,60\%$; $y = 0,001939 - 0,0004939x + 4,41x^2$). Esse fato se dá pelo decréscimo da cinética micelial em função do aumento da concentração de manitol no meio (Figura 17). Vale destacar que os isolados F17, F07, F10 e F09 apresentaram crescimento micelial na maior concentração de Manitol (20%).

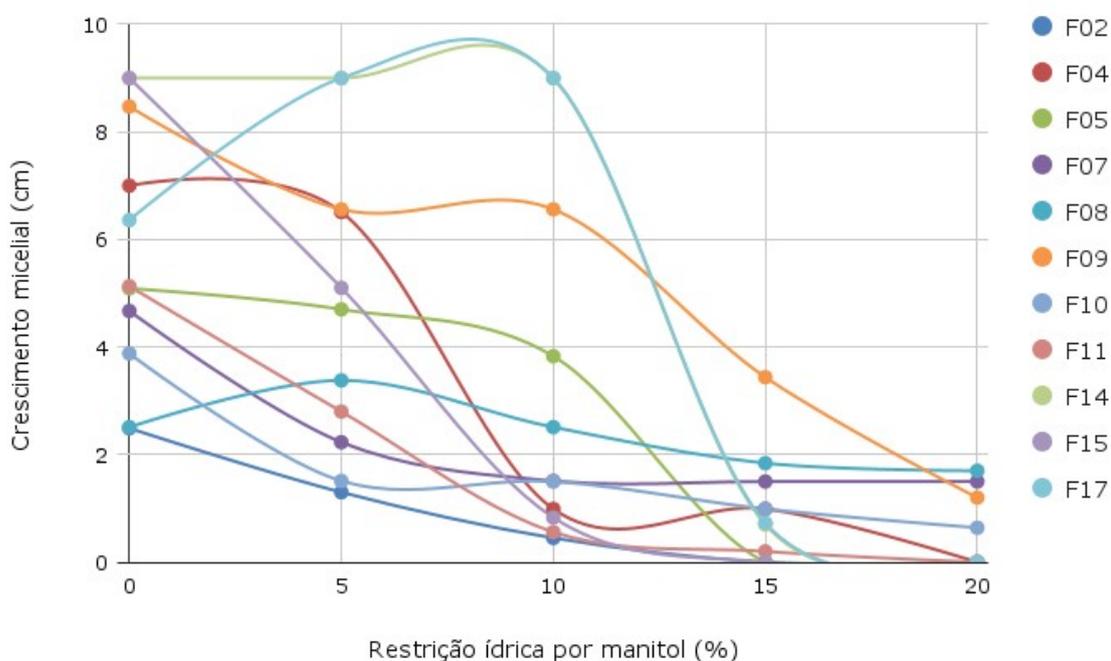


Figura 17: Crescimento micelial de fungos rizoféricos associados à cactáceas em função de restrição hídrica. F02 a F17: isolados de fungos rizoféricos. Fonte: Autor (2020).

Os dados contribuem como subsídio para a seleção de isolados que, tolerando o estresse hídrico, contribuem para o desenvolvimento vegetal por meio da adaptação aos ambientes mais extremos no que se trata da disponibilidade hídrica. Assim, é de se esperar que os isolados mantenham *in vitro* as mesmas características observadas no ambiente do qual foram isolados, ou seja, uma área em processo de desertificação, ausente de tratamentos culturais e com aumento exponencial dos índices de sais.

O estresse hídrico é considerado um fator limitante na estrutura celular e no metabolismo da planta, principalmente em sua fase inicial (LÜTTGE, 2007), onde seus processos metabólicos estão em constante atividade e sensíveis ao ambiente. Desse modo, a redução no teor de água ocasiona em alterações dos processos fisiológicos e bioquímicos, como por exemplo, alteração na turgidez da célula, diminuição na divisão celular, diminuição de síntese de proteínas, fechamento de estômatos, alterações nas taxas de fotossíntese, translocação de nutrientes, absorção de íons, aumento do acúmulo de espécies reativas de oxigênio (JALEEL et al., 2009), logo, a inoculação de plantas com espécies microbianas tolerantes a esse tipo de estresse proporciona melhor desenvolvimento e produtividade.

3.5 Crescimento de plântulas

Por meio da análise estatística ($p < 0,05$) foi possível observar que o tratamento de sementes com filtrados fúngicos proporciona desenvolvimento das plântulas e radículas (Figuras 18 e 19). Esses resultados estão relacionados à capacidade desses microorganismos de liberar exudatos no meio, incluindo reguladores de crescimento vegetal como auxinas, citocininas e giberelinas, responsáveis pelo alongamento dos tecidos e diferenciação celular (TAIZ et al., 2017).

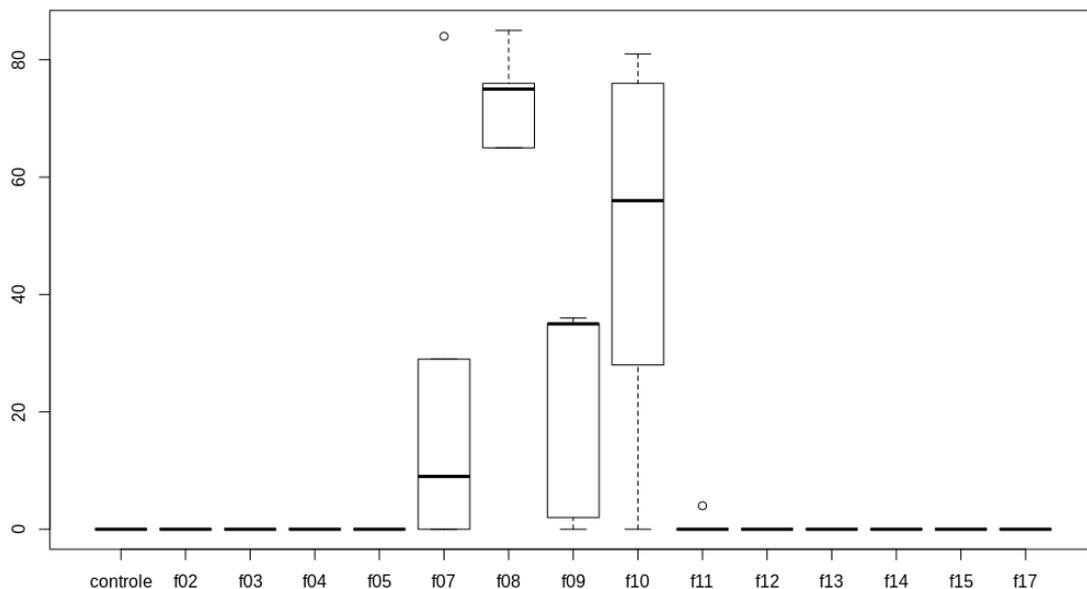


Figura 18. Altura de Plântulas de pepino em função do tratamento das sementes com filtrados fúngicos. F02 a F17: isolados de fungos rizosféricos. Fonte: Autor (2020).

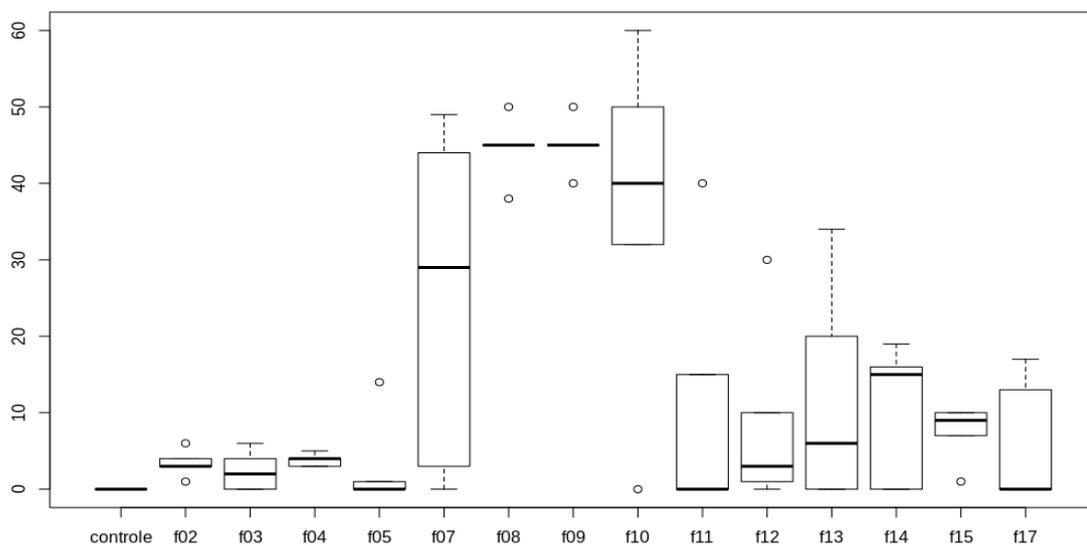


Figura 19. Comprimento da radícula e pepino em função do tratamento das sementes com filtrados fúngicos. Fonte: Autor (2020).

Todas as sementes tratadas com os filtrados fúngicos foram capazes de emitir radículas sete dias após incubação. Quanto a altura de plântulas, apenas as isolados F07,

F08, F09 e F10 foram capazes de estimular o alongamento das plântulas (Figura 120). Assim, observa-se que mesmo que a isolado seja capaz de estimular o desenvolvimento de radículas no início do desenvolvimento vegetal, não há consequente desenvolvimento da plântula *in vitro*. Em adição, não foi observada a presença de fungos na superfície ou interior do meio ou por sobre as sementes tratada, sendo observado presença de primórdios miceliais no tratamento controle.

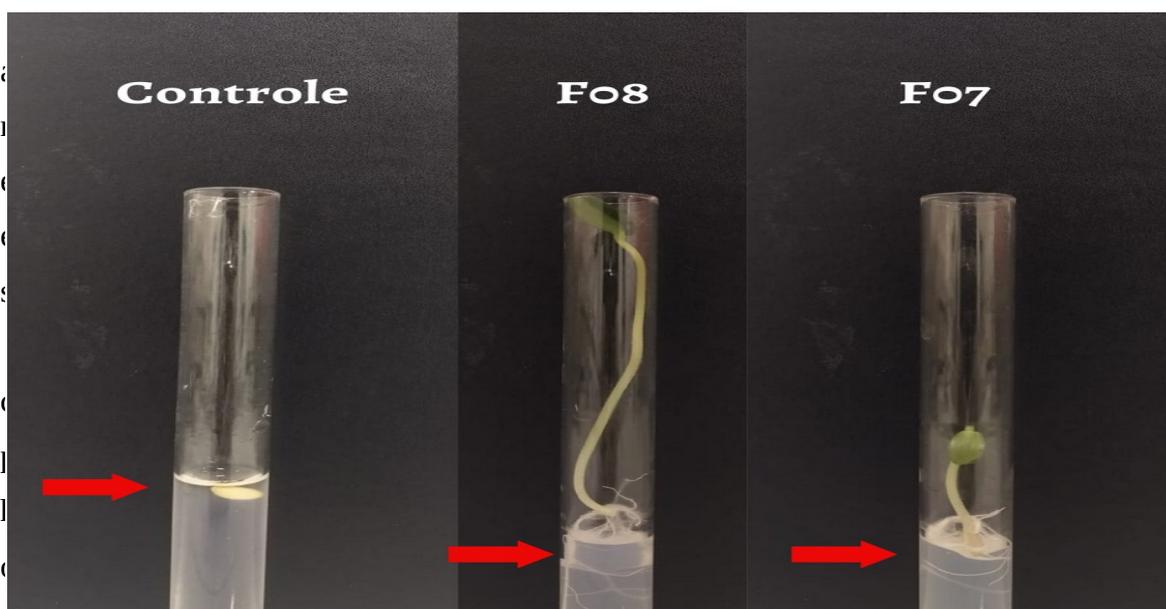


Figura 20. Crescimento de plântulas de pepino sob influência de extratos fúngicos. Controle: semente não tratada com o extrato. F08. Plântula bem desenvolvida; F07 plântula com desenvolvimento intermediário.

Por meio dos ensaios *in vitro* realizados é possível registrar que os isolados de fungos rizosféricos associados à cactáceas apresentam características como promotores de crescimento vegetal.

Os isolados estudados são capazes de solubilizar fosfato com baixa interferência do pH do meio, produzir auxinas, desenvolver-se em meio a restrição hídrica, inibir o crescimento de fitopatógenos e estimular a germinação e crescimento de plântulas, sendo possível afirmar que estas possuem potencial biotecnológico para prospecção em processos industriais para aplicação na agricultura.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, R. G. V.; SILVA, C. S.; SANTOS, T. M. C.; LIMA, J. R. B.; MONTALDO, Y. C.; ABREU, L. A.; SILVA, A. B.; ARAUJO JUNIOR, J. V.; SILVA, J. M. Potential Of Endophytic Bacteria Of The *Bacillus* Genus To Brassica Oleracea Var. Acephala Growth Promotion. **Asian Academic Research Journal of Multidisciplinarity**, v. 6, n. 3, p. 53-61, 2019.

BAKRI, M.M. Tri-Calcium and Zinc Phosphates Solubilization by *Aspergillus niger* and Its Relation to Organic Acids Production. **BioNanoScience**, v. 9, p. 238-244, 2019.

BRANDÃO, D. F. R. **Isolamento de micro-organismos antagonistas de solo para o controle de *Bipolaris oryzae*, agente causal da mancha parda em arroz.** 2017, 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Fitopatologia). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2017.

CASTRO, G. S. A.; BOGIANI, J. C.; SILVA, M. G.; ROSOLEM, C. A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1311-1318, 2008 .

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FU, S-F.; WEI, J-Y.; CHEN, H-W.; LIU, Y-Y.; LU, H-Y.; CHOU, J-Y. Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. **Plant Signaling & Behavior**, v. 10, n. 8, p. e1048052-1, 2015.

HAO, X.; ZHU, W-G.; NICOLAISEN, M. H. The Composition and Phosphorus Cycling Potential of Bacterial Communities Associated With Hyphae of *Penicillium* in Soil Are Strongly Affected by Soil Origin. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1-14, 2020.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; ALJUBURI, H. J.; SOMASUNDARAN, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. **International Journal of Agricultural & Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

LUBNA, S. A.; HAMAYUN, M.; GUL, H.; LEE, I-J.; HUSSAIN, A. *Aspergillus niger* CSR3 regulates plant endogenous hormones and secondary metabolites by producing gibberellins and indoleacetic acid. **Journal of Plant Interactions**, v. 13, n. 1, p. 100-111, 2018.

LÜTTGE, U. **Physiological ecology of tropical plants.** 1.ed.Berlin: Springer. 2007. 474p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.

MONTALDO, Y. C. **Bioprospecção e isolamento de bactérias associadas à cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) com características para a promoção de crescimento vegetal**. 2016. 101 f. Tese (Doutorado em Rede Nordeste de Biotecnologia) Maceió, Alagoas, 2016.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiological Letters**, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

OLIVEIRA, A. G.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SANTOS, G. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp.. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149-155, 2012.

PATEL, S.; PAREKH, V.; PATEL, K.; JHA, S. Plant Growth-promoting Activities of *Penicillium* sp. NAUSF2 Ameliorate *Vigna radiata* Salinity Stress in Phosphate-deficient Saline Soil. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 57, p. 500-507, 2021.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013.

RAWAT, P.; DAS, S.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S. C. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 2020.

RStudio Team. **RStudio: Integrated Development for R**. RStudio, PBC, Boston, MA, 2020.

SILVA, C. S.; TENÓRIO, F. A.; SILVA, J. M.; GUEDES-CELESTINO, E. L. F.; ARAÚJO, R. G. V.; LIMA, J. R. B.; MONTALDO, Y. C.; SANTOS, T. M. C. Solubilização de fosfatos inorgânicos por bactérias endofíticas isoladas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*). **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 1 2018.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Solos, 1999. 370p.

SILVA, J. M.; NASCIMENTO, S. P. G.; MASSAHUD, R. T. R.; SANTOS, T. M. C.; LIMA, G. S. A. **Atributos químicos e biológicos do solo: Um estudo no Semiárido**

alagoano. In: Ensaios interdisciplinares em ciências agrárias. GOMES, I. A.; MEDEIROS, M. B.; BATISTA, M. C.; GONZAGA, K. S.; FELIX, R. J. S.; SILVA JUNIOR, J. M.; SANTOS, J. P. O. Edição n 1. vol. 1, 2019. pp. 42-50.

SILVA, J. M.; SANTOS, T. M. C.; ALBUQUERQUE, L. S.; MONTAALDO, Y. C.; OLIVEIRA, J. U. L.; SILVA, S. G. M.; NASCIMENTO, M. S.; TEIXEIRA, R. R. O. Potential of the endophytic bacteria (*Herbaspirillum* spp. and *Bacillus* spp.) to promote sugarcane growth. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 8, p. 754-760, 2015.

SIMI, L. D.; LEITE, L. G.; TREVISAN, O.; COSTA, J. N. M.; OLIVEIRA, L. E.; SCHMIDT, F. S.; BUENO, R. N. S.; BATISTA FILHO, A. Mortality of *Conotrachelus humeropictus* in response to combined application of the nematode *Steinernema brazilense* and the fungus *Beauveria bassiana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. 1-9, 2018.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiol Reviews**, v. 31, p. 425-448, 2007.

SUÁREZ-ESTRELLA, F.; ARCOS-NIEVAS, M.A.; LÓPEZ, M.J.; VARGAS-GARCÍA, M.C.; MORENO, J. Biological control of plant pathogens by microorganisms isolated from agro-industrial composts. **Biological Control**, v. 67, p. 509-515, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TURAEVA, B.; SOLIEV, A.; ESHBOEV, F. A.; KAMOLOV, L.; AZIMOVA, N.; ZUKHRITDINOVA, N.; KHAMIDOVA, K. The use of three fungal strains in producing of indole-3-acetic acid and gibberellin acid. **Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology**, v. 21, n. 35-36, p. 32-43, 2020.

VERA, D. F.; PÉREZ, H.; VALENCIA, H. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizósfera de Arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). **Acta Biologica Colombiana**, v. 7, n. 1, p. 33-40, 2002.

VINDYA KANTHI MUNASINGHE, M.; SAVITRI KUMAR, N.; JAYASINGHE, L.; FUJIMOTO, Y. Indole-3-Acetic Acid Production by *Colletotrichum siamense*, An Endophytic Fungus from *Piper nigrum* Leaves. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 7, n. 6, p. 475-479, 2017.

WICKLOW, D.T.; WILSON, D.M. *Paecilomyces lilacinus*, a colonist of *Aspergillus flavus* sclerotia buried in soil in Illinois and Georgia. **Mycologia**, v. 82, n. 3, p. 393-395, 1990.

YUNIATI, Y.; ROLLANDO, R. Isolation of antibacterial compounds from endophyte fungal of fusarium sp. In phyllanthus niruri linn. leaves. **Journal of Pharmaceutical Sciences & Research**, v. 10, n. 2, p. 260-264, 2018.

ZAIDI, A.; KHAN, M. S.; AHMAD, M.; OVES, M.; WANI, P. A. **Recent advances in plant growth promotion by phosphate-solubilizing microbes**. In: KHAN, M.; ZAIDI, A.; MUSARRAT, J. (eds) Microbial Strategies for Crop Improvement. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009, pp. 23.

CAPÍTULO IV

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE TOMATEIRO (*Lycopersicon sculentum* L.) EM FUNÇÃO DE PÓ DE ROCHA SILICÁTICA E INOCULAÇÃO DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS

RESUMO - A produção agrícola mundial carece cada vez mais de tecnologias e alternativas para produção vegetal sem agressão ao meio ambiente, bem como recuperação das áreas degradadas. Nessa perspectiva, encontram-se os fungos rizosféricos promotores de crescimento vegetal, os quais são amplamente utilizados na agricultura. Em adição, a rochagem é um processo que despende uma grande quantia de pó de rochas, as quais são classificadas de acordo com as condições geológicas de seu local de extração sendo mineralogicamente diversas. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o potencial de promoção de crescimento de tomate *in vivo* pela inoculação de fungos filamentosos isolados de rizosfera de cactáceas em combinação com pó de rocha silicática. Os experimentos foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial, onde os fatores corresponderam à combinação dos isolados fúngicos com o pó de rocha, bem como sua ação de modo individual. Foram avaliados seus parâmetros biométricos, os quais foram submetidos à análise de variância. Assim, foi possível observar que há interação positiva entre a inoculação dos fungos rizosféricos e o pó de rocha, sendo potencial para aplicação em campo para desenvolvimento de plantas de tomate.

Palavras-chave: Micro-organismos eficientes, rochagem, promotor de crescimento, biometria.

**DEVELOPMENT OF TOMATOES SEEDLINGS (*Lycopersicon sculentum* L.) IN
FUNCTION OF SILICATE ROCK POWDER AND RHIZOSPHERIC FUNGI
INOCULATION**

ABSTRACT - Global agricultural production increasingly lacks technologies and alternatives for vegetable production without harming the environment, as well as the recovery of degraded areas. In this perspective, there are rhizospheric fungi that promote plant growth, which are widely used in agriculture. In addition, stonemeal is a process that uses a large amount of rock dust, which are classified according to the geological conditions of their extraction site and mineralogically diverse. In this context, the aim of this study was to evaluate the potential to promote tomato growth in vivo by inoculation of filamentous fungi isolated from the rhizosphere of cacti in combination with silicate rock powder. The experiments were carried out in a completely randomized design with a factorial scheme, where the factors corresponded to the combination of fungal isolates with rock dust, as well as their action individually. Their biometric parameters were evaluated and submitted to analysis of variance. Thus, it was possible to observe that there is a positive interaction between the inoculation of rhizospheric fungi and rock dust, being potential for field application for the development of tomato plants.

Keywords: Efficient microorganisms, stonework, growth promoter, biometry.

1. INTRODUÇÃO

O constante desenvolvimento da agricultura moderna e as necessidades crescentes de adaptações em função do crescimento populacional no que trata a demanda de alimentos, tem suscitado busca de tecnologias e alternativas para prover incremento na produção agrícola mundial. Nesse caminho encontra-se a tecnologia de aplicações de micro-organismos promotores de crescimento vegetal, também conhecidos como micro-organismos eficientes, os quais possuem vários mecanismos que, por meio de seu metabolismo, conferem atributos de crescimento vegetal (SILVA et al., 2021).

Dentre os mecanismos de promoção de crescimento destaca-se a produção ou indução de síntese de fitormônios (BABU et al., 2015), solubilização e disponibilidade de nutrientes essenciais para o desenvolvimento vegetal como P e K (HARO; BENITO, 2019; SILVA et al., 2020), indução de resistência a pragas e doenças (HOSSAIN; SULTANA; HYAKUMACHI, 2017), dentre outras características que fazem esses micro-organismos importantes no desenvolvimento de produtos para aplicação na cadeia produtiva da agricultura, provendo incremento na produtividade.

Essa relação entre plantas e micróbios também está relacionada à ações sistêmicas, tais como a resistência ou resiliência a condições abióticas, como explicado por Khan, Waqas e Lee (2015), onde os autores explicam que a ação de fungos do gênero *Penicillium* exerce resistência a estresse abióticos por meio da inoculação desses fungos em plantas de pimenta (*Capsicum annuum*), onde a síntese de hormônios vegetais pelos fungos nas plantas assemelha-se ao que ocorre quando da aplicação dos mesmos hormônios de modo exógeno. Babu et al. (2015) mostram em suas pesquisas que fungos do gênero *Penicillium* atuam na promoção de crescimento não apenas quando testadas suas características in vitro, mas também na assimilação de aproveitamento de nutrientes em plantas de pepino.

Hossain, Sultana e Hyakumachi (2016) afirmam que a inoculação do fungo *Penicillium viridicatum* no modelo biológico *Arabidopsis thaliana* promove indução sistêmica de resistência à *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, mediada pela colonização radicular e sinalização de etileno. Portanto, embora já se discuta em muitos estudos sobre a ação de fungos filamentosos como os do gênero *Trichoderma* e os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), outros gêneros e espécies apresentam potencial para promoção de crescimento.

Ismail et al. (2018) descrevem que o fungo *Aspergillus japonicus* possui habilidade de promoção de crescimento vegetal em condições ótimas e sob estresse. Em adição, os autores afirmam que a aplicação desse fungo em culturas de interesse agrícola como girassol e soja proporciona a qualidade nutritiva e produtiva dessas culturas. De mesmo modo, pesquisas conduzidas por Lu et al. (2019) demonstram que a utilização do extrato do fungo *Paecilomyces variotii* promovem crescimento e resistência sistêmica em plantas de *Arabidopsis*.

Em adição às tecnologias utilizadas para incremento e implementação da produtividade agrícola, outras alternativas para a nutrição de plantas e melhoria da qualidade dos agroecossistemas têm sido pesquisadas. Isto pois, a utilização de nutrição mineral das plantas por muitas vezes se torna onerosa e não completamente aproveitada, dadas as condições edafoclimáticas e as necessidades nutricionais de cada cultura.

A rochagem é compreendida como uma técnica baseada na adição de pó de rocha de variados tipos de rochas ou minerais que possuam a habilidade de alterar positivamente a fertilidade dos solos (WELTER et al., 2011). Essa técnica pode ser considerada como um tipo de remineralização, onde o pó de rocha é utilizado para rejuvenescer solos pobres ou lixiviados, sendo fonte natural de fósforo, potássio, cálcio e magnésio, além de uma série de micronutrientes indispensáveis à nutrição vegetal (THEODORO et al., 2006), os quais seriam originalmente oriundos da adubação mineral convencional.

Essa tecnologia, conforme o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pretende modificar a tendência no uso de insumos químicos, bem como tornar-se uma prática acessível ao agricultor, especialmente pelo seu baixo custo. Remineralizador pode ser definido então como um material de origem mineral que sofreu redução e classificação de tamanho por processos mecânicos e que altera índices de fertilidade do solo por meio da adição de macro e micronutrientes para as plantas, bem como promove a melhoria das propriedades físicas, químicas como também da atividade biológica dos solos (BRASIL, 2013).

Dada a sua natureza geológica, a maioria das rochas precisa ser processada para estimular e acelerar o processo de liberação dos seus nutrientes. A moagem, em diferentes granulometrias, é o primeiro passo para facilitar a disponibilização dos macro e micronutrientes, uma vez que provoca o aumento da superfície de contato e, conseqüentemente, facilita a ação de processos intempéricos e microbiológicos, aumentando a solubilidade mineral. Logo, a aplicação das técnicas de remineralização por

meio de rochagem em associação com a inoculação de sementes é uma alternativa promissora, uma vez que micro-organismos como os fungos rizosféricos possuem a habilidade de solubilizar nutrientes para que estes sejam disponibilizados às plantas de interesse (SILVA et al., 2021), entretanto, estudos que tratam dessa associação ainda são incipientes, porém necessários para adoção de técnicas e desenvolvimento de bioprodutos para aplicação agrícola.

Para a produção de mudas, é necessário uma série de fatores que permitam que estas possuam um firme estabelecimento e pleno desenvolvimento quando transplantadas para o campo. Assim, a sanidade e vigor de mudas, como tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), cultura que sofre com o ataque de diversas pragas e doenças (CORREIA et al., 2021). Desse modo, a aplicação de bioinsumos e agentes microbianos são alternativas para desenvolvimento de mudas saudáveis e estabelecimento no campo (ARAÚJO; CARVALHO, 2009; CORREIA et al., 2021).

Portanto, vistas as necessidades de desenvolvimento tecnológico e aplicação de tecnologias, objetivou-se por meio desse estudo avaliar o desenvolvimento de mudas de tomateiro (*L. esculentum* Mill.) sob inoculação de fungos filamentosos isolados de rizosfera de cactáceas com e sem associação com aplicação de pó de rocha silicática.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Origem e descrição dos micro-organismos e pó de rocha

Os fungos utilizados no presente estudo foram isolados de rizosfera de cactáceas localizadas em área em processo de salinização e desertificação decorrentes da ação antropogênica (NASCIMENTO et al., 2018), no município de Ouro Branco, Alagoas. Todos os isolados estão devidamente identificados e depositados na coleção de micro-organismos do Laboratório de Microbiologia Agrícola do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, bem como sua identificação depositada no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) conforme Tabela 4.

Tabela 6. Descrição dos isolados fúngicos rizosféricos e seus respectivos acessos no GenBank.

Isolado/Código	Espécie/Gênero	Acesso GenBank
F02	<i>Penicillium</i> sp.	OK210351
F04	<i>Aspergillus</i> sp.	OK210353
F05	<i>Coprinellus radians</i>	OK210350
F07	<i>Aspergillus</i> sp.	OK210342
F08	<i>Neurospora</i> sp.	OK178929
F09	<i>Coprinellus radians</i>	OK178928
F10	<i>Aspergillus</i> sp.	OK210345
F11	<i>Penicillium</i> sp.	OK210326
F14	<i>Paecilomyces</i> sp.	OK210352
F15	<i>Penicillium</i> sp.	OK210344
F17	<i>Paecilomyces</i> sp.	OK210347

O pó de rocha silicática em estudo é um resíduo do processo de produção de brita de mineração localizada na Zona da Mata alagoana. Trata-se de uma mistura de rochas ígneas intrusivas: Granodiorito, Biotita monzogranito e Sienogranito as quais contêm como principal fonte de potássio (K) cristais de K-Feldspato (50% - tipo Microclina e Plagioclásio). Estes minerais se apresentam algumas vezes alterados para argilominerais.

2.2 Preparação das sementes

As sementes utilizadas foram extraídas de frutos de tomate de mesa maduros adquiridos em feira livre. Para tanto, a mucilagem foi completamente removida e lavada em peneira e água corrente. Posteriormente, após remoção de toda a mucilagem e permanecendo apenas as sementes nuas, estas foram submetidas à assepsia (hipoclorito de sódio 1% por 1 minuto, álcool 70% por 30 segundos e tríplice lavagem em água destilada esterilizada). Após esse procedimento, as sementes foram dispostas em bandeja contendo papel filtro e acondicionadas em câmara de fluxo laminar com ventilação forçada para secagem.

Após a secagem, as sementes foram submetidas às análises de pureza (%), germinação (%) e vigor (%), conforme metodologia proposta pelo MAPA (BRASIL, 2009). Assim, observada pureza (100%), germinação e vigor (95%), as sementes estavam aptas para os ensaios posteriores.

2.3 Produção do inóculo e plantio

Para a preparação do inóculo, os isolados foram crescidos previamente em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) por 10 dias. Após esse período e constatando a presença de esporos por sobre a formação das colônias, estas foram então raspadas com auxílio de uma espátula metálica estéril e a superfície da placa lavada com Tween 80 (0,01%, v/v) para remoção de conídios e esporos. Em seguida, a lavagem da placa foi filtrada em gaze estéril e depositadas em erlenmeyer contendo água destilada estéril (100ml), seguida da contagem e padronização dos esporos em visualização em microscópio óptico em câmara de Neubauer, ajustando a concentração de esporos em 10^4 esporos por mililitro.

Para o plantio, foi utilizado solo esterilizado por autoclavagem em dois ciclos de 1h. O solo possuía as seguintes características químicas: pH em água 5,4; Na (mg/dm³) 20; P (mg/dm³) 17; K (mg/dm³) 115; Ca (cmol_c/dm³) 1,90; Mg (cmol_c/dm³) 1,46; Al (cmol_c/dm³) 0,55; H+Al (cmol_c/dm³) 4,92; CTC efetiva (cmol_c/dm³) 4,29; CTC Total (cmol_c/dm³) 8,66; MO (g/kg) 27,8; V(%) 43; m (%) 13; Saturação de Ca (%) 21,9; Saturação de Mg (%) 16,9; Saturação de K (%) 3,3; Saturação de Na (%) 1.

O solo foi acondicionado em vasos plásticos de volume total de 500 ml, seguido do plantio das sementes (5 sementes por vaso) e adição de 1 ml do inóculo com pipetador. O pó de rocha silicática foi adicionado previamente às sementes, sendo um volume de 1,5g por vaso, conforme regulamentação do MAPA (BRASIL, 2016).

O experimento foi conduzido em telado protegido com rega diária com água de torneira, observando-se o tempo de germinação, o qual ocorreu seis dias após semeadura (DAS) compreendendo este ao momento em que ocorreu germinação homogênea nos tratamentos. O experimento foi conduzido então por 25 dias após emergência das plântulas (DAE), com desbaste realizado após o décimo dia. Após esse período, as plantas foram removidas cuidadosamente dos vasos e suas raízes lavadas em água para remoção total do solo, procedendo-se em seguida à mensuração de seus parâmetros biométricos, os quais foram altura de planta (AP), número de folhas (NF), diâmetro do coleto (DC), comprimento radicular (CR), biomassa da parte aérea (BPA) e biomassa do sistema radicular (BSR). Em adição aos parâmetros biométricos, foi realizada a avaliação visual da sanidade e vigor das raízes inoculadas.

2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento, apoiando-se em esquema fatorial, o qual consistiu na avaliação das plantas em função da inoculação com os isolados fúngicos e inoculação associada à adição do pó de rocha (12x2). Os dados coletados foram submetidos à Análise de Variância (ANAVA) pelo teste F, e as médias comparadas quanto sua significância pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se dos softwares Sisvar (FERREIRA, 2014) e Rstudio (2020) apoiando-se na linguagem R (2013). Para modelar as variáveis preditoras e resposta em relação à promoção de crescimento foi realizada a análise de componente principais (ACP) por meio do software Xlstat (ADINSOFT, 2021), adotando o modelo de correlação de Pearson.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio dos resultados observados, inicialmente foi possível constatar que nenhuma das mudas de tomate apresentou quaisquer sintomas assemelhados à ataque de patógeno no sistema radicular, bem como em suas folhas, o que torna o primeiro indício de ação simbiótica entre os fungos estudados e a referida cultura, indicando que não há patogenicidade. O mesmo se observou na parte aérea, onde não foi detectado nenhum dano, sintoma ou sinal. Em adição, observou-se que há visível diferença no porte das plantas em comparação aos tratamentos controle (Figura 21).

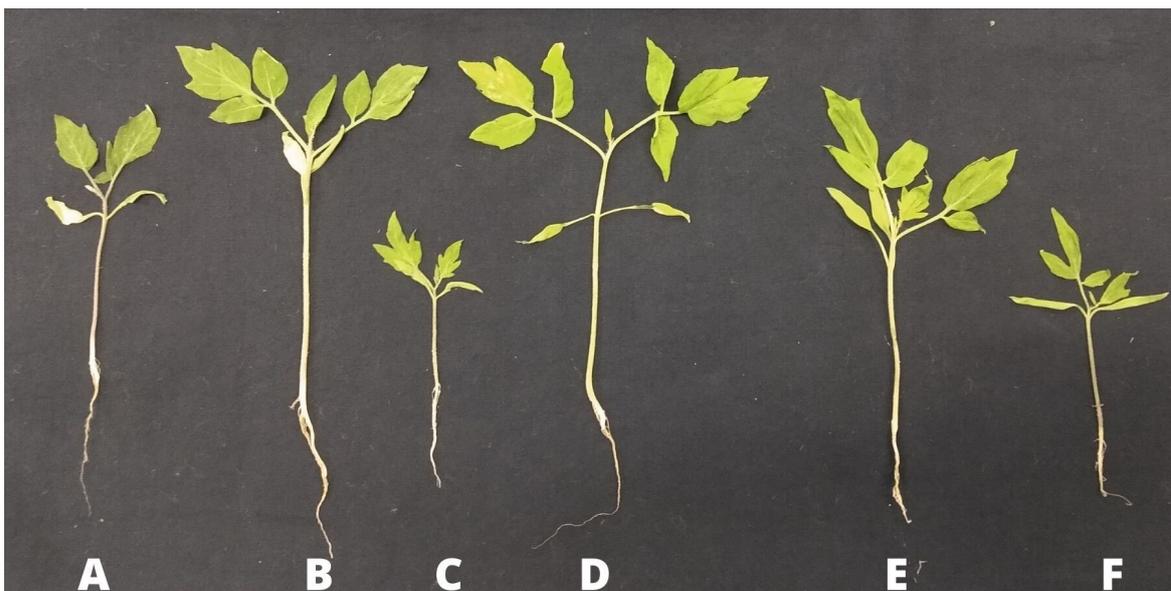


Figura 21. Mudanças de tomate submetidas à inoculação com fungos rizosféricos (A-C), em combinação com pó de rocha silicática (D-E), e planta sem nenhum tratamento (F).

Promoção de crescimento vegetal promovido por isolados de fungos como a espécie *Aspergillus niger* apresenta produção de ácido giberélico e ácido indolacético (PATTAEVA; RASULOV, 2015; LUBNA et al., 2018). Esses hormônios vegetais atuam na regulação do crescimento e alongamento celular nas plantas os quais estão relacionados com o maior crescimento observado nas plantas inoculadas. Vários autores relataram efeitos positivos na inoculação de micro-organismos promotores de crescimento em tomate (CORDERO et al., 2018; ZULUAGA et al., 2021). Essa promoção de crescimento, como relatado por Pii et al. (2015) pode ocasionar em modificação da arquitetura e funcionamento das raízes devido à produção de fitormônios e outros sinais, contudo, sem nenhum efeito adverso às plantas.

No que trata da biometria das plantas de mudas de tomateiro, o parâmetro AP apresentou diferença estatística significativa ($F, p \leq 0,05$). As variáveis preditoras (isolado e pó de rocha silicática) apresentaram interação significativa na avaliação de seus parâmetros, observando-se dependência entre si. As médias mostraram-se estatisticamente significativas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 7. Biometria de mudas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sob inoculação de fungos rizosféricos e aplicação de pó de rocha silicática.

Isolado	AP ¹ (cm)		DC (mm)	
	Pó de rocha		Pó de rocha	
	Com	Sem	Com	Sem
F02	5 a*	6,16 ab	1,4 ab	1,4 ab
F04	7,2 a	6,04 ab	1,5 abc	1,28 ab
F05	7,22 a	5,78 ab	1,4 ab	1,5 ab
F07	6,76 a	5,06 a	1,6 abc	1,94 b
F08	8,28 a	6,2 ab	2,36 cd	1,76 ab
F09	6,78 a	6,04 ab	2 bcd	1,9 ab
F10	6,96 a	6,68 ab	2,8 d	1,76 ab
F11	5,38 a	6,38 ab	2 bcd	1 a
F14	6,2 a	5,52 a	1 a	2,1 b
F15	6,88 a	7,58 ab	1 a	1,7 ab
F17	7,84 a	6,6 ab	2 bcd	1 a
Controle	4,12 a	4,34 a	2 bcd	1 a
CV	30		26,52	
Isolado	NF (u)		CR (cm)	
	Pó de rocha		Pó de rocha	
	Com	Sem	Com	Sem
F02	2 a	2 b	5,06 ab	4,92 a
F04	2,2 a	2,2 ab	4,34 ab	4,86 a
F05	2,8 b	2 b	4,9 ab	5,26 a
F07	3 b	2 b	4,16 ab	4,50 a
F08	3,2 b	2 b	5 ab	6,04 a
F09	2 a	2 b	3,90 ab	4,30 a
F10	2 a	2 b	5,10 ab	4,80 a
F11	2 a	2 b	3,24 a	4,12 a
F14	2 a	2 b	4,38 ab	5,58 a
F15	2 a	2,6 b	3,58 ab	4,70 a
F17	2 a	2 b	6,34 b	5,56 a
Controle	2 a	2 b	2,42 a	3,82 a
CV	12,9		30,45	
Isolado	BSR (g)		BPA (g)	
	Pó de rocha		Pó de rocha	
	Com	Sem	Com	Sem
F02	0,0246 abc	0,0192 ab	0,1778 ab	0,2096 ab
F04	0,0259 abc	0,031 ab	0,2324 abc	0,2007 ab
F05	0,02424 c	0,0386 b	0,3666 bc	0,1623 ab
F07	0,0230 abc	0,0236 ab	0,2444 abc	0,1744 ab
F08	0,0324 bc	0,0324 ab	0,4536 c	0,4024 b
F09	0,0254 abc	0,0188 ab	0,2112 abc	0,1884 ab
F10	0,03 bc	0,019 ab	0,1778 ab	0,2332 ab
F11	0,0189 bc	0,0126 ab	0,1512 ab	0,1858 ab
F14	0,0156 bc	0,018 ab	0,2060 ab	0,1408 a
F15	0,026 abc	0,0242 ab	0,2686 abc	0,3470 ab
F17	0,0223 abc	0,019 ab	0,3904 bc	0,2128 ab
Controle	0,0056 a	0,0056 a	0,0986 a	0,16 ab

CV²

52,1

48,75

*Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ¹AP: altura de plantas, DC: diâmetro do coleto, NF: número de folhas, BR: biomassa da raiz, BPA: biomassa da parte aérea. ²CV: Coeficiente de Variação.

A variável resposta DC mostrou interação significativa (F , $p \leq 0,05$) entre as variáveis preditoras, mostrando que tanto a inoculação dos fungos rizosféricos de modo isolado quanto conjuntamente com a aplicação do pó de rocha, proporcionou incremento para a variável (Tabela XX). Do mesmo modo, a variável NF apresentou o mesmo comportamento quanto as variáveis preditoras e resposta. DC apresentou diferença entre as demais variáveis resposta conforme modelo de ACP (Figura 22).

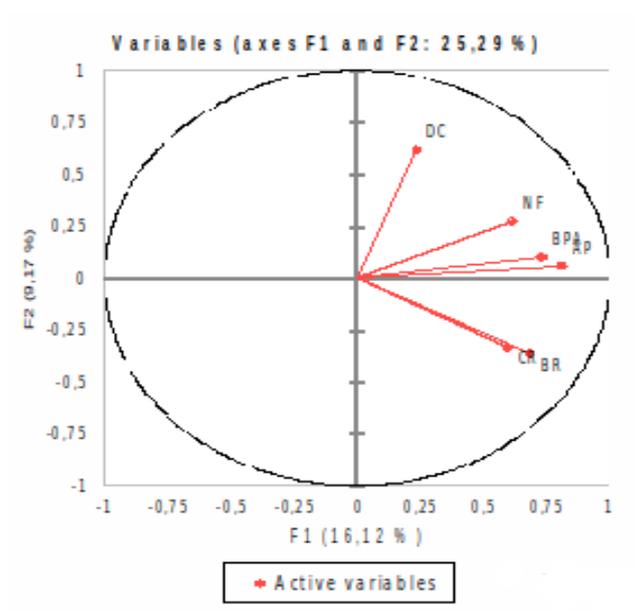


Figura 22. Análise dos Componentes Principais (ACP) das variáveis resposta em plantas inoculadas com fungos rizosféricos e submetidas à pó de rocha.

Gomes Júnior et al. (2011) ao estudarem a inoculação de fungos micorrízicos em associação com biofertilizantes em plantas de tomate cereja verificaram que não há relação significativa entre esses dois fatores, onde somente a aplicação dos micro-organismos provê o crescimento diametral do caule das plantas superiormente à aplicação do biofertilizante, mesmo que de modo conjunto. O aumento no número de folhas em hortaliças e plantas cultivadas no geral é uma característica desejável, uma vez que será responsável por expandir a área fotossintética e assim elevar o potencial produtivo da

cultura (TAVARES et al., 2019). As diferenças constatadas entre os fungos promotores de crescimento para NF pode estar relacionado ao fato de que o desempenho da promoção de crescimento por esses agentes biológicos seja dependente das propriedades e mecanismos de ação do organismo em questão, sendo esta uma relação complexa realizada por meio de interações entre fatores bioquímicos, produção de diversas enzimas, e compostos benéficos (MACHADO et al., 2012), fatores esses que estão relacionados não somente ao micro-organismo e a planta alvo, mas também os condicionantes edafoclimáticos.

Em relação ao CR, a inoculação com os fungos rizosféricos apresentou significância estatística ($F, p \leq 0,05$), assim como a aplicação do pó de rocha associado com os isolados rizosféricos, entretanto, de modo isolado, o pó de rocha não demonstrou incremento no que trata dessa variável biométrica.

Maldaner e Christ (2020) em seu experimento avaliando a influência do pó de rocha basáltica na cultura da alface, descrevem que em ambos os cultivos o comprimento do sistema radicular não demonstrou diferenças significativas em relação as crescentes doses aplicadas, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo, onde foram apresentadas poucas diferenças entre os tratamentos, não havendo médias completamente distintas, mas com proximidade estatística embora diferentes estatisticamente ($p \leq 0,05$).

A variável resposta BR não apresentou significância estatística entre os tratamentos e as variáveis preditoras, não sendo observada interação entre tais fatores ($F, p \leq 0,05$). Os isolados fúngicos apresentaram dentro da variável resposta significativa, como também o pó de rocha ($F, p \leq 0,05$). Assim, entende-se que esses condicionantes não atuam de modo conjunto e não modelam a promoção de crescimento em plantas de tomate.

Para a variável BPA, apenas a variável preditora isolado (fungo) apresentou significância estatística ($F, p \leq 0,05$), não havendo interação entre os demais fatores estudados. No desdobramento, há interação entre isolado dentro de cada nível de pó de rocha (com e sem aplicação) com probabilidade de 5% pelo teste de Tukey.

Bojórquez et al. (2010) destacam que além do valor nutricional disponibilizado pelos biofertilizantes aplicados na agricultura, a aplicação de micro-organismos benéficos como os fungos tem um papel importante no desenvolvimento das plantas cultivadas. Além do papel inerente ao crescimento vegetal por meio dos mecanismos bioquímicos diretos, encontram-se ainda a supressão de patógenos e pragas agrícolas.

Conforme Donato et al. (2021) a utilização do fungo *Penicillium* sp. promove o controle da atividade de formigas cortadeiras. Neshia e Suddiqui (2017) enfatizam que a

inoculação de *Paecilomyces lilacinus* e *Aspergillus niger* sozinhos e em combinação promove o controle de doenças radiculares em plantas de cenoura. Segundo Torres Júnior (2014) em estudos realizados com fungos filamentosos aplicados à cultura do tomate, constatou que estes apresentam potencial de crescimento vegetal da cultura, como também propiciam aumento da eficiência de absorção de nutrientes e desenvolvimento da parte aérea da planta. Machado et al. (2012) afirmam que os mecanismos de ação dos fungos promotores do crescimento vegetal são específicos e podem variar conforme o ambiente, substrato, disponibilidade de nutrientes e interferência de outros micro-organismos.

No que infere sobre as características promotoras de crescimento vegetal, a literatura não apresenta um consenso fixo sobre qual parâmetro melhor adotar para inferir sobre a capacidade promotora de crescimento. Como já mencionado, o número de folhas é uma variável resposta importante no que trata dos processos fisiológicos das plantas. O sistema radicular, por sua vez, pode apresentar suas peculiaridades em relação à planta estudada, onde seu alongamento propriamente não reflete a promoção de crescimento, mas também uma resposta a algum estresse abiótico.

Silva et al. (2014) afirmam que dentre os parâmetros biométricos utilizados para avaliação da capacidade simbiótica promotora de crescimento por micro-organismos, pode se adotar como representativo o diâmetro do coleto, uma vez que essa resposta reflete à ausência de estiolamento, o que pode ser um falso positivo no que trata da altura de plantas, não sendo esta última a variável resposta mais representativa.

No que trata da aplicação de pó de rocha em culturas agrícolas, vários são os exemplos de espectro de aplicação já descritos. Li, Mavrodi e Dong (2020) elucidam que a aplicação de pó de rocha em sistemas agrícolas proporciona melhoria nas qualidades do solo em seus aspectos físico e químico, ocasionando em incremento de produtividade agrícola. Desse modo, entende-se também como uma alternativa para recuperação de áreas degradadas.

Em estudo de revisão realizado por Amott et al. (2021), os autores destacam a importância da realização de mais pesquisas relacionadas ao entendimento e aplicação das formas disponíveis dos pós oriundos da rochagem em função das necessidades da agricultura. Ainda frisam que são alternativas promissoras para promover a revegetação de áreas degradadas pela ação antropogênica fundamentada em má exploração agropecuária.

Tito et al. (2019) estudando a aplicação de pó de rocha como enriquecimento de vermicomposto para aplicação na cultura do rabanete afirmam que este proporciona maior

eficiência produtiva da cultura. Essa eficiência está relacionada ao aporte nutricional relacionado à influência do pó de rocha na nutrição da planta e absorção dos nutrientes disponibilizados por esse processo.

A aplicação de pó de granito no tomate para controle *Tetranychidae* representa outro exemplo em que um produto à base de Si é capaz de controlar pragas herbívoras por fornecer defesa direta/indireta por meio de aplicação foliar e/ou em combinação como a incorporação ao solo (FARAONE et al., 2020), como ocorre com a aplicação do pó de rocha silicática. Conforme Mancuso et al. (2014) a aplicação de pó de rocha incrementa a exportação de nutrientes na cultura ao estudar *Coffea arabica*, com respostas similares à aplicação convencional de nutrientes minerais potássicos.

Na busca da literatura foi possível constatar que não há desenvolvimento de pesquisas relacionadas à associação/combinção de pó de rocha silicática e fungos para promoção de crescimento vegetal, onde os estudos são encontrados de modo unidirecionais, sendo o presente estudo inédito em relação a esse tipo de pesquisa. Os micro-organismos do solo coexistem com as raízes das plantas e influenciam em sua nutrição podendo ser explorados para diminuir o uso de fertilizantes minerais em prol da sustentabilidade agrícola mundial. Portanto, conforme esclarecem Haro e Benito (2019) embora o papel dos fungos na nutrição das plantas tenha sido estudado em profundidade com relação ao N e P, mais esforços são necessários para desvendar os papéis desses organismos na nutrição de K.’

4. CONCLUSÕES

A associação entre fungos filamentosos isolados de rizosfera de cactáceas em associação à aplicação de pó de rocha em tomate proporcionou o crescimento vegetal, observado pela emissão de folhas e aporte de biomassa como mostrado nos resultados.

Registra-se aqui o primeiro estudo correlacionando a promoção de crescimento vegetal por fungos filamentosos em tomate associado à aplicação de pó de rocha silicática, tornando necessária realização de futuras pesquisas no que tange a associação entre esses dois fatores, o que proporcionará o desenvolvimento de bioprodutos para aplicação agropecuária.

REFERÊNCIAS

- ARNOTT, A.; GALAGEDARA, L.; THOMAS, R.; CHEEMA, M.; SOBZE, J-M. The potential of rock dust nanoparticles to improve seed germination and seedling vigor of native species: A review. **Science of The Total Environment**, v. 775, 2021.
- BABU, A. G.; KIM, S. W.; YADAV, D. R.; HYUM, U.; ADHIKARI, M.; LEE, Y. S. *Penicillium menonorum*: A Novel Fungus to Promote Growth and Nutrient Management in Cucumber Plants. **Mycobiology**, v. 43, n. 1, p. 49-56, 2015.
- CORDERO, I.; BALAGUER, L.; RINCÓN, A.; PUEYO, J. J. Inoculation of tomato plants with selected PGPR represents a feasible alternative to chemical fertilization under salt stress. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 181, n. 5, p. 694–703, 2018.
- CORREIA, D. P. A.; SANTANA-SANTOS, I. V.; DA SILVA LIMA, I.; ROCHA ANDRADE, K.; GOBBI BARBOSA, A. V.; ALMEIDA VIÉGAS, P. R.; MARINO, R. H. PRODUÇÃO DE MUDAS DE TOMATEIRO EM INOCULANTE FÚNGICO. **Revista Brasileira De Agropecuária Sustentável**, v. 11, n.1, p. 118-127, 2021.
- DONATO, A.; VARGAS, A. B.; MENEZES, B. F.; NUNES, F. A. Controle de formigas cortadeiras com *Penicillium* spp. proveniente de laranjas em decomposição: Aplicação em diferentes frequências avaliadas por agricultores. **Extensão em Foco**, v. 24, 2021.
- FARAONE, N.; EVANS, R.; LEBLANC, J.; HILLIER, N. K. Soil and foliar application of rock dust as natural control agent for two-spotted spider mites on tomato plants. **Scientific Reports**, v. 10, p. 12108, 2020.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- GOMES JÚNIOR, J.; DA SILVA, A. J. N.; SILVA, L. L. M.; DE SOUZA, F. T.; DA SILVA, J. R. Crescimento e produtividade de tomateiros do grupo cereja em função da aplicação de biofertilizante líquido e fungo micorrízico arbuscular. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 4, p. 627-633, 2011.
- HARO, R.; BENITO, B. The Role of Soil Fungi in K⁺ Plant Nutrition. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3169, 2019.
- HOSSAIN, M.; SULTANA, F.; HYAKUMACHI, M. Role of ethylene signalling in growth and systemic resistance induction by the plant growth-promoting fungus *Penicillium viridicatum* in Arabidopsis. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 7-8, p. 432-441, 2017.
- ISMAIL, M. H.; HUSSAIN, A.; KHAN, S. A.; LEE, I. Endophytic Fungus *Aspergillus japonicus* Mediates Host Plant Growth under Normal and Heat Stress Conditions. **BioMed Research International**, 2018.

KHAN, A. L.; WAQAS, M.; LEE, I. J. Resilience of *Penicillium resedanum* LK6 and exogenous gibberellin in improving *Capsicum annuum* growth under abiotic stresses. **Journal of Plant Research**, v. 128, p. 259-268, 2015.

LI, J.; MAVRODI, D. V.; DONG, Y. Effect of rock dust-amended compost on the soil properties, soil microbial activity, and fruit production in an apple orchard from the Jiangsu province of China. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 67, n. 10, p. 1313-1326, 2021.

LU, C.; LIU, H.; JIANG, D.; WANG, L.; JIANG, Y.; TANG, S.; HOU, X.; HAN, X.; LIU, Z.; ZHANG, M.; CHU, Z.; DING, X. *Paecilomyces variotii* extracts (ZNC) enhance plant immunity and promote plant growth. **Plant and Soil**, v. 441, p. 383-397, 2019.

LUBNA; ASAF, S.; HAMAYUN, M.; GUL, H.; LEE, I. J.; HUSSAIN, A. *Aspergillus niger* CSR3 regulates plant endogenous hormones and secondary metabolites by producing gibberellins and indoleacetic acid. **Journal of Plant Interactions**, v. 13, n. 1, p. 100–111, 2018.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n.1, p. 274-288, 2012.

MALDANER, B. L.; CHRIST, W. R. A. **Efeito do uso de pó de basalto na cultura da alfafa**. 2020. 41 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Agronomia) – Universidade do Oeste de Santa Catarina, São José do Cedro, 2020.

MANCUSO, M. A. C.; SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, C. A. C.; CASTRO, C. S. A. Effect of potassium sources and rates of arabica coffee yield, nutrition, and macronutrient export. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 1448-1456, 2014.

PATTAEVA, M.; RASULOV, B. Growth and Phytohormones Production by Thermophilic *Aspergillus fumigatus* 2 and Thermotolerant *Aspergillus terreus* 8 Strains in Salt Stress. **British Journal of Applied Science & Technology**, v. 8, n. 3, p. 305–312, 2015.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013.

RStudio Team. **RStudio: Integrated Development for R**. RStudio, PBC, Boston, MA, 2020.

SATTAR, A.; NAVEED, M.; ALI, M.; ZAHIR, Z. A.; NADEEM, S. M.; YASEEN, M.; MEENA, H. N. Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: A review. **Applied Soil Ecology**, v. 133, p. 146-159, 2018.

SILVA, J. M.; CRISTO, C. C. N.; MONTALDO, Y. C.; SANTOS, T. M. C.; LIMA, G. S. A. Solubilização de fosfato inorgânico por fungos rizosféricos associados à cactáceas do Semiárido alagoano. **Ciência Agrícola**, v. 18, p. 27-30, 2020.

SILVA, J. M.; SANTOS, T. M. C.; ALBUQUERQUE, L. S.; MONTAALDO, Y. C.; OLIVEIRA, J. U. L.; SILVA, S. G. M.; NASCIMENTO, M. S.; TEIXEIRA, R. R. O. Potential of the endophytic bacteria (*Herbaspirillum* spp. and *Bacillus* spp.) to promote sugarcane growth. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 8, p. 754-760, 2015.

TAVARES, A. T.; VAZ, J. C.; HAESBAERT, F. M.; REYES, I. D. P.; ROSA, P. H. L.; FERREIRA, T. A.; NASCIMENTO, I. R. Adubação NPK como promotor de crescimento em alface. **Agri-Environmental Sciences**, v. 5, n. (s/n), p. 1-9, 2019.

THEODORO, S. H.; LEONARDOS, O.; ROCHA, E. L.; REGO, K. G. Experiências de uso de rochas silicáticas como fonte de nutrientes. **Espaço e Geografia**, v. 9, n. 2, p. 263-292, 2006.

TITO, G. A.; CHAVES, L. H. G.; SOUZA, F. G.; CAVALCANTE, A. R.; FERNANDES, J. D.; VASCONCELOS, A. C. F. Efeito do vermicomposto enriquecido com pó de rochas na química do solo e cultura de rabanete. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 4, p. 506-511, 2019.

TORRES JÚNIOR, C. V. **Influência dos fungos dark septate sobre absorção de nutrientes e crescimento de plantas de arroz e tomate**. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

WELTER, M. K.; MELO, V. F.; BRUCKNER, C. H.; GÓES, H. T. P.; CHAGAS, E. A.; UCHÔA, S. C. P.. Efeito da aplicação de pó de basalto no desenvolvimento inicial de mudas de camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 922-931, 2011.

ZULUAGA, M. Y. A.; MILANI, K. M. L.; MIRAS-MORENO, B.; LUCINI, L.; VALENTINUZZI, F.; MIMMO, T.; PII, Y.; CESCO, S.; RODRIGUES, E. P.; OLIVEIRA, A. L. M. DE. Inoculation with plant growth-promoting bacteria alters the rhizosphere functioning of tomato plants. **Applied Soil Ecology**, v. 158, n. September, p. 103784, 2021.